

**ÁTILA FERNANDO VISINONI**

**DISPLASIAS ECTODÉRMICAS – REVISÃO DO GRUPO A,  
ATUALIZAÇÃO DE BANCO DE DADOS INFORMATIZADO  
E ANÁLISE DE VARIANTES DO GENE *EDI***

**CURITIBA  
2009**

**ÁTILA FERNANDO VISINONI**

**DISPLASIAS ECTODÉRMICAS – REVISÃO DO GRUPO A,  
ATUALIZAÇÃO DE BANCO DE DADOS INFORMATIZADO  
E ANÁLISE DE VARIANTES DO GENE *EDI***

**Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Genética, do Setor de Ciências Biológicas  
da Universidade Federal do Paraná como  
requisito parcial para a obtenção do título de  
doutor em ciências biológicas.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eleidi Alice  
Chautard-Freire-Maia**

**Co-orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nina Amália  
Brancia Pagnan e Prof. Dr. Ricardo Lehtonen  
Rodrigues de Souza**

**CURITIBA  
2009**



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Genética



## PARECER

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da defesa de tese de Doutorado a que se submeteu **ÁTILA FERNANDO VISINONI**, para fins de obter o título de Doutor em Ciências Biológicas na área de Genética da Universidade Federal do Paraná, no Programa de Pós-Graduação em Genética, são de parecer que se confira ao candidato o conceito "A".

Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 30 de janeiro de 2009

Banca Examinadora:

Prof. Dr.ª Eledi Alice Chautard Freire-Maia  
Orientadora e Presidente

Prof. Dr.ª Paula Cristina Trevilatto -PUC-PR  
Membro

Prof. Dr.ª Marta Pinheiro – Depto. de Teoria e Fundamentos da Educação, UFPR  
Membro

Prof. Dr. Iglênir João Cavalli – Depto. Genética, UFPR  
Membro

Prof. Dr. Rui Fernando Pilotto – Depto. Genética, UFPR  
Membro

Visto:

Prof. Dr. Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza  
Vice-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética

Para Renata. Para Alice.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus orientadores, professora Eleidi, professora Nina e professor Ricardo, pelos ensinamentos correções, sugestões e, acima de tudo, amizade.

À professora Eneida Lipinski Figueiredo (UFAL), pela coleta de sangue em indivíduos de duas famílias com portadores de XLHED.

À professora Maria Luiza Petzl-Erler, membro da banca de acompanhamento, pelas revisões e sugestões.

À senhora Dirce Oliveira Freire-Maia, minha gratidão pela inestimável colaboração na remodelação do Site das Displasias Ectodérmicas.

Ao Valter Baura, do departamento de Bioquímica da UFPR, pelo auxílio no seqüenciamento das amostras de DNA.

Às bibliotecárias, Telma Stresser de Assis e Izabella Elis Fernandes, pelo auxílio na pesquisa bibliográfica.

Ao Waldir Antonio da Silva, pelas consultas na área de informática.

Aos colegas de laboratório, especialmente à Samarina, à Patrícia e ao Henrique.

À minha família pelo grande incentivo, principalmente nos momentos mais difíceis, sem o qual não seria possível a realização deste projeto.

À Renata, minha esposa, por seu amor e paciência. Só consegui chegar até aqui devido ao seu apoio e compreensão.

Este trabalho teve auxílio financeiro da CAPES, CNPq e Fundação Araucária.

“Linguagem cifrada,  
guarda o código genético  
os signos da vida.

A vida conjuga os seres  
e transmite sua mensagem.”

Helena Kolody

## RESUMO

Displasias Ectodérmicas (DE) são desordens caracterizadas por alterações em duas ou mais estruturas ectodérmicas, sendo que no mínimo uma dessas alterações ocorra em cabelos/pelos, dentes, unhas ou glândulas sudoríparas. A Displasia Ectodérmica Hipoidrótica Ligada ao Cromossomo X (XLHED), também conhecida como Síndrome de Christ-Siemens-Touraine, é a DE mais comum e se caracteriza, principalmente, por hipoidrose grave, tricodisplasia e alterações dentárias, podendo ou não ocorrer oncodisplasia. Seu padrão de herança é recessivo ligado ao sexo afetando principalmente os indivíduos do sexo masculino. O gene *EDI*, responsável por essa displasia codifica, através de oito de seus doze exons, a Ectodisplasina-A, uma proteína transmembrânica pertencente à família do Fator de Necrose Tumoral (TNF). Mutações no gene *EDI* que acarretem alteração da ectodisplasina-A podem levar ao desenvolvimento da XLHED ou a casos de hipodontia não-sindrômica. Este trabalho tem como objetivos: analisar criticamente a definição e a classificação das displasias ectodérmicas; elaborar uma revisão atualizada das DEs, considerando dados clínicos e moleculares; disponibilizar as informações revisadas na Internet; examinar, por sequenciamento, o DNA de dez famílias portadoras de displasia ectodérmica hipoidrótica, em busca da alteração do gene *EDI*; e descrever possíveis novas mutações encontradas nessas famílias. Por oferecer um panorama atualizado sobre a definição e classificação das DEs, por fazer uma revisão das afecções pertencentes ao grupo A, e por disponibilizar esses dados na Internet, este trabalho poderá ser útil para pesquisadores, médicos e famílias com afetados por DE. A revisão das DEs permitiu relacionar 186 afecções do grupo A. Sessenta e quatro genes e três regiões cromossômicas também são relatados como responsáveis pela manifestação clínica de 62 diferentes DEs. Esses dados atualizaram o banco de dados informatizado sobre as DEs do grupo A, que foi novamente disponibilizado na *internet* ([www.displasias.ufpr.br](http://www.displasias.ufpr.br)). A análise do gene *EDI* permitiu a detecção de cinco mutações em seis das dez famílias estudadas. Duas dessas mutações, c.464insC e c.1005G>C ainda não foram descritas na literatura. Além disso, é apresentada uma revisão das mutações nos genes *EDI*, *EDAR* e *EDARADD*, responsáveis pelas displasias ectodérmicas hipoidróticas ligada ao sexo e autossômica.

Palavras-chave: Displasias ectodérmicas. Displasia ectodérmica hipoidrótica. Síndrome de Christ-Siemens-Touraine. Gene *EDI*. Genética molecular humana. Banco de dados informatizado.

## ABSTRACT

Ectodermal dysplasias (EDs) are congenital disorders characterized by alterations in two or more ectodermic structures, being at least one of these alterations in hair, teeth, nails or sweat glands. The X-Linked Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia (XLHED), also known as Christ-Siemens-Touraine Syndrome, is the most frequent ED and is mainly characterized by severe hypohidrosis, hypotrichosis and hypodontia with or without onychodysplasia. Its inheritance pattern is X-linked recessive, thus affecting mainly males. Eight from twelve exons of the *ED1* gene – responsible for this ED – code for ectodisplasin-A, a transmembrane protein belonging to the Tumor Necrosis Factor (TNF) family. Mutations in the *ED1* gene, leading to alterations in ectodisplasin-A, may determine XLHED or cases of non-syndromic hypodontia. This study has the following objectives: to analyze the definition and the classification of EDs critically; to elaborate an updated revision of EDs, considering clinical and molecular data; to make available this updated information in the Internet; to sequence DNA from carriers and/or affected by hypohidrotic ED, belonging to ten families, searching for *ED1* mutations; and to describe possible new mutations found in these families. In view of offering an updated panorama on EDs definition and classification, of making a revision of group A entities, and of making these data available in the Internet, this work may be useful for researchers, medical doctors and families with affected by ED. The EDs updated revision allowed listing 186 affections belonging to the A group. Sixty four genes and three chromosomal regions are also reported as responsible for the clinical manifestation of 62 different EDs. These data updated the computer data bank on EDs of the A group which was again made available in the Internet ([www.displasias.ufpr.br](http://www.displasias.ufpr.br)). The exam of the *ED1* gene allowed the detection of five mutations in six of the ten studied families. Two of these mutations, c.464insC and c.1005G>C had not yet been described in the literature. Furthermore, a revision on mutations in the *ED1*, *EDAR* and *EDARADD* genes, responsible for the X-linked and autosomal forms of hypohidrotic EDs, is presented.

Key words: Ectodermal dysplasias. Hypohidrotic ectodermal dysplasia. Christ-Siemens-Touraine syndrome. *ED1* gene. Human molecular genetics. Data bank.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - O GENE <i>EDI</i> E SEUS TRANSCRITOS COM DIFERENTES PROCESSAMENTOS ALTERNATIVOS .....	25
FIGURA 2.2 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA PROTEÍNA EDA-A.....	31
FIGURA 4.1 - ASPECTO DA PÁGINA INICIAL .....	65
FIGURA 4.2 - CLASSIFICAÇÃO DAS DES: TEXTO DESCRITIVO .....	65
FIGURA 4.3 - FICHÁRIO GERAL .....	66
FIGURA 4.4 - FICHA INDIVIDUAL (SÍNDROME DE CLOUSTON).....	66
FIGURA 4.5 - <i>LINKS</i> ÚTEIS .....	67
FIGURA 5.1 - HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA A .....	76
FIGURA 5.2 - HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA B.....	77
FIGURA 5.3 - HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA C.....	78
FIGURA 5.4 - HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA D .....	79
FIGURA 5.5 - HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA I.....	80
FIGURA 5.6 - HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA J.....	81
FIGURA 5.7 - ELETROFEROGRAMAS CONTENDO AS MUTAÇÕES ENCONTRADAS NO GENE <i>EDI</i> EM AMOSTRAS DE SEIS FAMÍLIAS BRASILEIRAS .....	83

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - MUTAÇÕES NO GENE <i>EDI</i> RELACIONADAS COM O FENÓTIPO XLHED .....	28
TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26) .....	41
TABELA 3.2 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS NÃO INCLUÍDAS EM REVISÕES ANTERIORES .....	52
TABELA 3.3 - GENES (N = 64) E REGIÕES CROMOSSÔMICAS (N = 3) RESPONSÁVEIS POR DISPLASIAS ECTODÉRMICAS .....	54
TABELA 5.1 - NÚMERO DE AMOSTRAS CLASSIFICADAS POR FAMÍLIA E PELOS SINAIS CLÍNICOS .....	75
TABELA 5.2 - MUTAÇÕES NO GENE <i>EDI</i> (N = 59) RELACIONADAS COM O FENÓTIPO XLHED OU COM HIPODONTIA ISOLADA DESCRITAS APÓS VISINONI ET AL. (2003) .....	87
TABELA 5.3 - MUTAÇÕES NO GENE <i>EDAR</i> (N = 24) RELACIONADAS COM O FENÓTIPO DE DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA DE HERANÇA AUTOSSÔMICA DOMINANTE (ADHED) OU RECESSIVA (ARHED).....	89
TABELA 5.4 - TIPOS DE MUTAÇÕES NO GENE <i>EDI</i> .....	90
TABELA 5.5 - MUTAÇÕES, POR EXON, NO GENE <i>EDI</i> – FREQUÊNCIAS E MÉDIA POR NUCLEOTÍDEO .....	91
TABELA A.1 - INICIADORES USADOS PARA A AMPLIFICAÇÃO DO GENE <i>EDI</i> POR PCR .....	119

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
2.1	DISPLASIAS ECTODÉRMICAS.....	14
2.2	DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA LIGADA AO CROMOSSOMO X (XLHED) E SUAS FORMAS AUTOSSÔMICAS .....	15
2.2.1	Características clínicas .....	16
2.2.2	Diagnóstico .....	18
2.2.3	Incidência.....	19
2.2.4	Tratamento .....	20
2.3	ASPECTOS MOLECULARES DE DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA LIGADA AO CROMOSSOMO X E SUAS FORMAS AUTOSSÔMICAS .....	20
2.3.1	O gene <i>EDI</i> .....	21
2.3.1.1	Localização, identificação, sequenciamento e determinação da estrutura do gene <i>EDI</i> .....	21
2.3.1.2	Variabilidade do gene <i>EDI</i> .....	25
2.3.2	A proteína ectodisplasina .....	30
2.3.3	O gene <i>EDAR</i> e o receptor EDAR .....	33
2.3.4	O gene <i>EDARADD</i> e seu produto .....	34
2.3.5	Interação das ectodisplasinas-A com seus receptores.....	34
<b>3</b>	<b>REVISÃO DAS DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A.....</b>	<b>36</b>
4	ATUALIZAÇÃO DE BANCO DE DADOS INFORMATIZADO .....	61
<b>5</b>	<b>ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE <i>EDI</i> EM DEZ FAMÍLIAS BRASILEIRAS .....</b>	<b>70</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>93</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>96</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>98</b>
	<b>APÊNDICE 1 MODELO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....</b>	<b>115</b>
	<b>APÊNDICE 2 MODELO DAS INSTRUÇÕES PARA COLETA E ENVIO DE AMOSTRAS DE SANGUE.....</b>	<b>116</b>
	<b>APÊNDICE 3 ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE <i>EDI</i> EM DEZ FAMÍLIAS BRASILEIRAS: DETALHAMENTO DA METODOLOGIA LABORATORIAL .....</b>	<b>117</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Displasias Ectodérmicas (DE) são desordens caracterizadas por alterações em duas ou mais estruturas ectodérmicas, sendo que no mínimo uma dessas alterações ocorra em cabelos/pelos, dentes, unhas ou glândulas sudoríparas (FREIRE-MAIA, 1971; 1977).

Vários trabalhos científicos foram conduzidos com o objetivo de catalogar as displasias ectodérmicas, como os realizados por Freire-Maia (1971; 1977), por Freire-Maia e Pinheiro (1984; 1987) e por Pinheiro e Freire-Maia (1994; 1996a). Em sua dissertação de mestrado, Lisboa-Costa (2001) catalogou 192 diferentes displasias ectodérmicas, pertencentes ao grupo A, de acordo com a classificação proposta por Freire-Maia (1971; 1977). Desse trabalho resultou também a criação de um banco de dados informatizado que se tornou temporariamente disponível na rede mundial de computadores. Porém por motivos técnicos ficou impossível o acesso a tal banco de dados.

A Displasia Ectodérmica Hipoidrótica Ligada ao Cromossomo X (XLHED) é a mais comum das displasias ectodérmicas. Caracteriza-se, principalmente, por hipoidrose grave, tricodisplasia, alterações dentárias e fácies característica, podendo ou não ocorrer onicodisplasia. Seu padrão de herança é recessivo ligado ao sexo, afetando principalmente os indivíduos do sexo masculino. Cerca de 70% das mulheres heterozigotas, contudo, manifestam sinais brandos da síndrome, tais como agenesia de alguns dentes e atividade sudorípara levemente diminuída.

Existem duas outras displasias ectodérmicas que são clinicamente indistinguíveis da XLHED, e muito mais raras. Ao invés de ligadas ao sexo, essas displasias são de determinação autossômica e tem recebido os nomes de Displasia Ectodérmica Hipoidrótica Autossômica Recessiva (ARHED) e de Displasia Ectodérmica Hipoidrótica Autossômica Dominante (ADHED).

O diagnóstico diferencial entre XLHED, ARHED e ADHED nem sempre é possível com base apenas nas características do mecanismo de herança. Estudos moleculares identificaram três genes relacionados com essas displasias ectodérmicas.

O gene *EDI*, localizado na região proximal do braço longo do cromossomo X (Xq12-q13.1) codifica uma proteína transmembrânica que está envolvida no processo precoce de interação epitélio-mesenquimal, que regula a formação de estruturas ectodérmicas. Mutações neste gene que acarretem alterações na estrutura da proteína levam ao desenvolvimento do fenótipo XLHED, sendo que várias destas mutações já foram descritas.

O gene *EDAR*, localizado na região proximal do braço longo do cromossomo 2 (2q11-q13), codifica um receptor para a ectodisplasia, chamado de EDAR. Por se tratar de um par de ligante-receptor, alterações tanto em um quanto em outro gene (*EDI* ou *EDAR*) levam ao surgimento de displasias ectodérmicas clinicamente idênticas, com variação apenas no seu padrão de herança. Há mutações nesse gene cuja herança é recessiva e outras de herança dominante.

Além disso, um outro gene chamado *EDARADD* e localizado no cromossomo 1 (1q42.2-q43) é responsável pela codificação de um adaptador que interage com o receptor EDAR. Mutações nesse gene já foram descritas como sendo responsáveis pelo surgimento das formas ARHED e ADHED.

A XLHED é um distúrbio de muito interesse clínico e, apesar de sua baixa incidência, não são poucos os casos de brasileiros afetados. Apesar disso, o único estudo que descreveu mutações do gene *EDI*, em brasileiros portadores de XLHED (VISINONI et al., 2003), não foi capaz de detectar alteração em duas das quatro famílias estudadas, utilizando a metodologia de PCR-SSCA (siglas inglesas para reação em cadeia da polimerase e análise conformacional de fita simples). Desde então, outras famílias se mostraram interessadas em obter diagnóstico molecular da displasia que as acometem. O estudo desse gene por meio de sequenciamento poderá levar à identificação das mutações possivelmente responsáveis pelo desenvolvimento do fenótipo XLHED, bem como descrever polimorfismos.

A identificação de mutações poderá dar uma contribuição para a determinação dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento do fenótipo XLHED. A comparação entre as mutações já descritas na literatura e aquelas detectadas neste trabalho, poderá fortalecer a hipótese de responsabilidade de determinada mutação no desenvolvimento de XLHED, caso se encontre uma mutação já descrita. Da mesma forma que o estudo anteriormente conduzido, este trabalho também poderá encontrar outras mutações às quais seja atribuído o fenótipo XLHED e que ainda não foram descritas.

Um encontro, *International Conference for Ectodermal Dysplasias Classification*, foi realizado no início do ano de 2008, nos Estados Unidos, com o objetivo de iniciar as discussões que possam levar a um consenso sobre definição e classificação das displasias ectodérmicas. Por este motivo, a revisão da definição e da classificação clínica, propostas por Freire-Maia (1971, 1977), e a revisão atualizada das displasias ectodérmicas fornecerão informações importantes para a continuidade dessa discussão.

A atualização do banco de dados informatizado sobre displasias ectodérmicas criado por Lisboa-Costa (2001) e a sua disponibilização na rede mundial de computadores (*Web*) é de grande importância, pois permitirão a consulta pública, rápida e atualizada, por parte de pessoas interessadas em obter informações a respeito das displasias ectodérmicas. Essas informações poderão ser utilizadas por pesquisadores, médicos, aconselhadores genéticos, cirurgiões-dentistas e outros profissionais das áreas de saúde e biológica. Por ser de fácil consulta e de linguagem simples, o banco de dados também será útil às famílias com indivíduos portadores de displasias ectodérmicas bem como ao público leigo em geral.

O presente trabalho tem como objetivos principais revisar a definição e a classificação das displasias ectodérmicas; atualizar as revisões publicadas das displasias ectodérmicas, levando em conta o agrupamento de afecções antes consideradas distintas; atualizar o banco de dados informatizado sobre displasias ectodérmicas criado por Lisboa-Costa (2001) e disponibilizá-lo na rede mundial de computadores, a fim de tornar pública a sua consulta; pesquisar as mutações no gene

*EDI* possivelmente responsáveis pelo fenótipo XLHED em dez famílias brasileiras; e comparar as mutações do gene *EDI* encontradas neste trabalho com as demais mutações já observadas anteriormente e descrever as possíveis mutações novas.

Os capítulos 3, 4 e 5 se referem, respectivamente, à revisão das DEs do grupo A, à atualização do banco de dados informatizado e à análise de mutações do gene *EDI* em dez famílias brasileiras. Esses capítulos foram redigidos no formato de artigos para publicação, sendo que diferem do padrão de artigos, no sentido de que suas referências são apresentadas somente no capítulo Referências, para não haver repetição. Uma discussão geral e as conclusões são apresentadas nos capítulos 6 e 7.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DISPLASIAS ECTODÉRMICAS

Displasias Ectodérmicas são distúrbios do desenvolvimento dos tecidos derivados da ectoderme. São caracterizadas por alterações na epiderme e suas estruturas acessórias, com ou sem envolvimento do tecido nervoso. Segundo a definição proposta por Freire-Maia, displasias ectodérmicas são desordens caracterizadas por alterações em duas ou mais estruturas ectodérmicas, sendo que no mínimo uma dessas alterações ocorra em cabelos/pelos, dentes, unhas ou glândulas sudoríparas (FREIRE-MAIA, 1971; 1977).

A expressão Displasia Ectodérmica Hereditária foi cunhada por Weech em 1929 para designar um pequeno grupo de doenças (WEECH, 1929), entre as quais a Displasia Ectodérmica Hipodróica Ligada ao Cromossomo X era a mais conhecida. Atualmente, a expressão Displasia Ectodérmica engloba um grande, heterogêneo e complexo grupo de distúrbios. Uma classificação clínica desse grupo nosológico foi proposta por Freire-Maia (1971; 1977) que, com base nos sinais, o dividiu em dois grupos: Grupo A, que compreende todas as alterações que ocorrem em duas ou mais das seguintes estruturas: cabelos/pelos, dentes, unhas e glândulas sudoríparas; e Grupo B, que compreende as alterações que ocorrem em apenas uma das quatro estruturas acima, associada a outro defeito ectodérmico.

Recentemente, novas classificações foram propostas para as displasias ectodérmicas com base no conhecimento genético ao nível molecular (PRIOLO et al., 2000; PRIOLO e LAGANÀ, 2001; LAMARTINE, 2003; ITIN e FISTAROL, 2004). Infelizmente, essas classificações possuem limitações, uma vez que apenas 30% das displasias ectodérmicas possuem os seus genes identificados.

Alguns trabalhos trazem uma relação das displasias ectodérmicas conhecidas. Em sua dissertação de mestrado, Lisboa-Costa (2001) relacionou 192 afecções



pertencentes ao grupo A. Por outro lado, Irvine (2005) relacionou 141 displasias distintas, sendo que seis delas pertencem ao grupo B. O autor voltará a este tema no capítulo 3 deste trabalho.

## 2.2 DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA LIGADA AO CROMOSSOMO X (XLHED) E FORMAS AUTOSSÔMICAS

A Displasia Ectodérmica Hipoidrótica ligada ao Cromossomo X é uma síndrome de displasia e malformação caracterizada por tricodisplasia, alterações dentárias e anomalias faciais, podendo ou não apresentar onicodisplasia, pertencendo, portanto, ao subgrupo 1-2-3-4 (subgrupo trico-odonto-onico-disidrótico). Foi primeiramente descrita por Thurnam em 1848 (THURNAM, 1848). Apesar de ser a mais comum das displasias ectodérmicas, sua incidência é baixa, acometendo um em cada 100.000 indivíduos do sexo masculino (ROCCA e SPADA, 1991; TAPE e TYE, 1995).

A XLHED, cujo nome também pode ser abreviado como XHED, possui vários sinônimos, entre eles, Síndrome de Christ-Siemens-Touraine. e Displasia Ectodérmica Anidrótica (EDA). Apesar dessa última denominação não ser apropriada, por se tratar de um distúrbio onde a sudorese está reduzida, e não ausente, essa expressão é muito utilizada na literatura, tendo denominado inclusive o gene responsável por esta afecção: gene *EDA1*. Esse gene também tem sido designado por *EDA* ou, mais recentemente, *EDI*.

Seu padrão de herança é recessivo ligado ao cromossomo X, conforme deduziu Thadani em 1921, afetando principalmente os indivíduos do sexo masculino (THADANI, 1921). Um estudo realizado por Pinheiro e Freire-Maia (1979) mostrou que 70% das mulheres heterozigotas manifestam uma forma parcial ou branda da síndrome, o que os levou a sugerir duas formas de manifestação para esta síndrome: uma forma principal que afeta indivíduos do sexo masculino e uma forma secundária no sexo feminino.

Para uma mulher manifestar a forma grave dessa displasia, seria necessário que ela fosse homozigota ou que sofresse inativação preferencial do cromossomo X com o gene normal (BARTSTRA et al., 1994). Os outros casos de mulheres gravemente afetadas seriam atribuídos às formas autossômicas (ARHED ou ADHED), clinicamente indiferenciáveis (GORLIN; PINDBORG; COHEN, 1976; BONORA et al., 1981; FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1982), cujo gene foi localizado em 2q11-13 (MONREAL et al., 1999).

Nas formas autossômicas espera-se igual número médio de filhos e filhas afetados nas irmandades, bem como existe a possibilidade de um pai transmitir o gene responsável pela displasia a seu filho, o que não é possível na forma ligada ao cromossomo X. A forma autossômica recessiva de herança foi primeiramente sugerida por Passarge, Nuzum e Schubert (1966).

Duas DEs semelhantes à ARHED, mas com padrão autossômico dominante foram inicialmente descritas: a Síndrome de Zanier e Roubicek (ZANIER e ROUBICEK, 1976) e a Displasia ectodérmica autossômica dominante, tipo Jorgenson. (JORGENSEN; DOWBEN; DOWBEN, 1987). Atualmente, considera-se que essas DEs são, na verdade, a Displasia ectodérmica hipodróica autossômica dominante, ADHED (Ver Capítulo 3).

### 2.2.1 Características clínicas

A manifestação clínica envolve alterações nos pelos, dentes, sudorese e, eventualmente, unhas. Além das manifestações nessas estruturas clássicas, sinais clínicos em outras estruturas também são observados. As principais características apresentadas por um paciente são descritas a seguir.

**Pelos:** hipotricose capilar e corporal, podendo haver escassez ou ausência de sobrancelhas e cílios. Os cabelos são finos, secos e, muitas vezes, hipocrômicos.

Curiosamente, a barba e bigode são normais, apesar de os pelos pubianos e da axila serem escassos.

**Dentes:** hipodontia leve, moderada ou grave, ocasionalmente podendo ocorrer anodontia. Os dentes decíduos podem estar retidos, e a irrupção pode estar atrasada. Taurodontismo<sup>1</sup>, incisivos conóides, microdontia e dentes extranumerários podem ser detectados (FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1984). Outras alterações dentárias também foram descritas, tais como redução do diâmetro coronário dos dentes anteriores; terceiros molares com o dobro do volume; e incisivos centrais superiores em forma de pá (CRAWFORD; ALDRED; CLARKE, 1991).

**Unhas:** apesar de geralmente serem normais, pode ocorrer distrofia ou ausência ao nascimento. Eventualmente podem ser frágeis e quebradiças.

**Sudorese:** Hipoidrose com ou sem hipertermia. Ausência ou redução no número de poros sudoríparos.

As manifestações em outras estruturas são observadas na pele, face e crânio, trato respiratório e algumas glândulas.

A pele é fina, com textura macia e seca devida à hipoplasia ou ausência de glândulas sebáceas e sudoríparas. Ocasionalmente podem ocorrer áreas com alteração de pigmentação. Os mamilos podem estar ausentes ou ser supranumerários.

A face é muito característica em indivíduos gravemente afetados. Normalmente observam-se lábios grossos e proeminentes, nariz em sela com base achatada, hipoplasia da maxila. Devido aos problemas dentários, a boca apresenta diminuição da dimensão vertical. O processo alveolar não se desenvolve sem os dentes e, portanto, está ausente em áreas edêntulas, enquanto que a crista alveolar é subdesenvolvida nas regiões dentadas (TAPE e TYE, 1995; KUPIETZKY e HOUP, 1995). Em um estudo

---

<sup>1</sup> Anomalia dentária caracterizada pelo aumento das coroas e das câmaras pulpares dos molares (decíduos e permanentes) em detrimento de suas raízes (SHAFFER; HINE; LEVY, 1985).

radiográfico, Saksena e Bixler (1990) observaram que homens afetados e mulheres portadoras apresentam alterações cefalométricas características, tais como maxilar estreito e retruído; região frontal proeminente; e redução simétrica e generalizada de todo o complexo craniofacial.

Os indivíduos manifestam fotofobia relacionada à redução da atividade lacrimal (GILGENKRANTZ et al., 1989); aplasia ou hipoplasia dos ductos e glândulas lacrimais. A falta de lágrimas e a de cílios pode levar à ocorrência de conjuntivite (HIZLI; ÖZDEMIR; BAKKALOGLU, 1998). São observadas rugas abaixo ou ao redor dos olhos, do nariz e da boca. A região periorbital está, muitas vezes, mais pigmentada que o restante do corpo (MACDERMOT e HULTEN, 1990).

Além disso, os afetados podem apresentar ozena; rinite; redução do olfato; atrofia das glândulas mucosas do sistema respiratório superior, dificultando a respiração e favorecendo infecções; faringite e laringite crônicas, com disфонia e rouquidão; aplasia ou hipoplasia de glândulas mamárias (FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1984).

### **2.2.2 Diagnóstico**

O diagnóstico clínico é feito muitas vezes no primeiro ano de vida quando o menino apresenta febre recorrente de origem desconhecida (SMITH, 1993). A redução da atividade sudorípara resulta em uma intolerância ao calor, inclusive com hipertermia após pequenas atividades físicas. Convulsões devidas à febre podem eventualmente ocorrer devido à incapacidade de perspiração, podendo resultar em danos neurológicos, inclusive retardo mental, se o paciente não receber os cuidados a tempo (TAPE e TYE, 1995).

O diagnóstico diferencial entre XLHED e ARHED ou ADHED pode, às vezes, ser realizado através de avaliação do padrão de herança da afecção na família do indivíduo afetado (MUNOZ et al., 1997). Para tanto, deve-se examinar as mulheres

que deveriam ser portadoras. Isso pode ser feito de uma maneira relativamente simples através do exame dentário e da análise do padrão de distribuição corporal das glândulas sudoríparas (CLARKE e BURN, 1991). Crawford, Aldred e Clarke (1991) sugerem o uso de radiografias para se detectarem alterações morfológicas radiculares; presença de dentes retidos; e agenesia dentária.

Como já mencionado, estudos moleculares identificaram três genes responsáveis pelo surgimento dessas displasias (*EDI*, *EDAR* e *EDARADD*). A análise desses genes pode permitir o diagnóstico diferencial entre XLHED, ARHED e ADHED.

### 2.2.3 Incidência

A XLHED ocorre em todos os grupos étnicos de todo o mundo e sua incidência foi estimada por Stevenson e Kerr (1967) como sendo um para cada 100.000 nascimentos masculinos.

Por se tratar de formas de displasias com frequência extremamente baixa não existe nenhum cálculo referente à taxa de prevalência de ARHED e ADHED na população em geral. Além disso, já foram descritas mutações no gene *EDAR* (que será discutido a seguir) com um padrão de herança autossômico dominante (HO; WILLIAMS; SPRITZ, 1998) ou recessivo (MUNOZ et al., 1997; MONREAL et al., 1999).

As estimativas de mortalidade precoce dos meninos afetados por XLHED variam, em diferentes estudos, de 10 a 54% (FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1990; PINHEIRO e FREIRE-MAIA, 1991), e estão relacionadas principalmente com infecção respiratória e hipertermia súbita (NAKATA, et al., 1980; CLARKE et al., 1987).

#### 2.2.4 Tratamento

O tratamento é puramente paliativo e visa amenizar a sintomatologia, aumentando o conforto e melhorando a auto-estima do paciente. Os cuidados básicos consistem em controlar a temperatura corporal (através do uso de compressas frias, duchas, bebidas geladas, ambientes refrigerados e medicamentos); prevenir e tratar cáries dentárias, infecções respiratórias e dermatológicas; monitorar o desenvolvimento da fala e audição. Pacientes que apresentem hipodontias graves poderão ser submetidos a tratamentos protéticos a fim de se aumentar a eficiência mastigatória e fonética, bem como proporcionar uma aparência mais harmônica, elevando sua auto-estima (CLARKE, 1987; FREIRE-MAIA, 1998). Em crianças, porém, este trabalho pode ser dificultado pela necessidade de constantes modificações nas próteses, uma vez que as arcadas dentárias estão em desenvolvimento e pela pouca colaboração do paciente (ITTHAGARUN e KING, 2000). Os pais devem ser orientados sobre a importância da higiene na saúde da criança, principalmente no que se refere à remoção de crostas que se podem formar nas regiões nasal, auricular e genital. À família pode-se oferecer aconselhamento genético e psicológico (CLARKE, 1987; FREIRE-MAIA, 1998).

### 2.3 ASPECTOS MOLECULARES DE DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA LIGADA AO CROMOSSOMO X E DE SUAS FORMAS AUTOSSÔMICAS

A seguir serão apresentados os aspectos moleculares referentes ao gene *ED1* e seus produtos, as diversas formas de proteínas chamadas ectodisplasinas. Da mesma forma, também serão abordados os aspectos moleculares do gene *EDAR* e de seu produto, o receptor da ectodisplasina, chamado EDAR e também do gene *EDARADD* e seu produto.

### 2.3.1 O gene *EDI*

Serão descritos a seguir os vários aspectos relevantes do gene *EDI*, tais como sua localização, sequenciamento, estrutura e variabilidade.

#### 2.3.1.1 Localização, identificação, sequenciamento e determinação da estrutura do gene *EDI*

Vários trabalhos foram conduzidos, por diferentes autores, para que se pudesse estabelecer a localização precisa do gene *EDI* no cromossomo X. Os primeiros trabalhos eram baseados em estudos de sua ligação com genes do cromossomo X (RACE e SANGER, 1975; FILIPPI et al., 1979; CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1981) ou em estudos de pacientes com translocações nesse cromossomo (DE LA CHAPELLE, 1982; ZONANA et al., 1988b; TURLEAU et al., 1989). Posteriormente, os estudos de ligação foram realizados com o uso de marcadores moleculares desse cromossomo (MACDERMOT; WINTER; MALCOLM, 1986; CLARKE, 1987; HANAUER et al., 1987; HANAUER et al., 1988; ZONANA et al., 1988a; 1992; 1993). Desta forma, conseguiu-se estabelecer que o gene *EDI* está localizado na região proximal do braço longo do cromossomo X (Xq12-q13.1), 10 cM distal ao marcador DXS1 (KRUSE et al., 1989).

Para identificar o gene *EDI*, Srivastava et al. (1996) fizeram o mapeamento fino do ponto de quebra de uma translocação t(X;1)(q13.1;p36.3) encontrada em uma mulher com XLHED. A região candidata ao gene *EDI* contém cinco grupos de sítios de restrição que definem ilhas CpG, que costumam estar associadas a genes. A terceira dessas ilhas está mapeada em uma região a cerca de 1kb desse ponto de quebra e a aproximadamente 100kb de outro ponto de quebra, previamente mapeado, de outra paciente com translocação. Essa ilha está mais próxima do centrômero que os dois pontos de quebra. As duas outras ilhas CpG mais teloméricas estão mapeadas a cerca

de 350kb dessas duas translocações. Considerando esses dados em conjunto, os autores sugeriram que a ilha CpG proximal à translocação da paciente estudada se localizava na extremidade 5' do gene candidato para XLHED.

Isso foi subsequentemente confirmado pelo trabalho de Kere et al. (1996) que identificaram a presença de dois exons separados por um intron de 200 kb. No caso dos pacientes estudados, o gene estava interrompido em seis casos por translocação X/autossomo ou por deleções submicroscópicas e, em nove casos, os pacientes possuíam mutações de ponto. Esse gene se expressa em queratinócitos, folículos capilares, glândulas sudoríparas, bem como em outros tecidos, e codifica uma proteína transmembrânica de 135 aminoácidos. Esses autores sugeriram que essa proteína poderia desempenhar uma função na sinalização/interação epitélio-mesenquimal.

Srivastava et al. (1997) clonaram o gene *Tabby* de camundongo e o confirmaram como o homólogo do gene *EDI*. Em dois alelos *Ta* foram encontradas alterações: mutação de ponto em um e deleção no outro. Os autores mostraram que o gene codifica uma proteína, por eles denominada Ectodisplasina-A, que se expressa em dentes em desenvolvimento e epiderme. Não foi detectada a expressão desse gene nos tecidos correspondentes de camundongos afetados.

Ferguson et al. (1997) identificaram um cDNA candidato para o gene *Tabby* e, baseados no fenótipo e mapeamento sintênico, postularam ser o equivalente murino ao gene *EDI*. Mutações foram identificadas em três diferentes alelos *Ta* e análise por Northern blot indicou que o gene se expressa em níveis crescentes durante a embriogênese, no período em que as estruturas afetadas se desenvolvem. O produto protéico codificado pelo exon 1 é altamente homólogo (87%) ao produto protéico do gene *EDI*, incluindo a presença de um domínio transmembrânico. No entanto, o cDNA murino codifica uma porção adicional de 246 aminoácidos que contém um pequeno domínio de colágeno. Essa estrutura é similar à encontrada em várias proteínas associadas à membrana, que apresentam um ou mais domínios de colágeno na região C-terminal extracelular. Como as mutações só haviam sido identificadas em 10 a 15% das famílias com XLHED, considerando-se os dois exons até então



descritos, os autores especularam que seria possível a existência de exons adicionais no gene *EDI*, homólogos aos de camundongo. Estudos de hibridização entre YACs da região de *EDI* com o cDNA de *Tabby* deram apoio a essa hipótese.

Ferguson et al. (1998) examinaram o DNA genômico de 162 homens afetados e de 21 mulheres com manifestação ou certamente portadoras de XLHED. Os dois únicos exons, até então conhecidos, foram amplificados com o uso de iniciadores flanqueadores e a análise por SSCA demonstrou que aproximadamente 7% dos pacientes, todos homens, possuíam mutação no exon 1 e nenhuma variação no exon 2. Dez diferentes mutações supostamente responsáveis pela displasia e quatro prováveis polimorfismos foram identificados. Ambos os exons conhecidos foram sequenciados em 10 pacientes, que não apresentavam alterações detectáveis na SSCA, mas não se identificaram novas mutações. Nenhuma correlação entre fenótipo e genótipo foi estabelecida. Deste modo, apenas uma minoria dos homens afetados foi diagnosticada pela análise do DNA, sendo que os pacientes remanescentes provavelmente apresentavam mutações em exons do gene *EDI* ainda desconhecidos.

No mesmo ano, Monreal, Zonana e Ferguson (1998) identificaram uma segunda forma da proteína codificada pelo gene *EDI* em humanos, através da clonagem do seu homólogo murino. Este cDNA codifica para uma proteína com 391 aminoácidos, sendo que 256 deles são codificados por sete novos exons. Esta proteína é 94% idêntica à proteína murina e inclui um domínio de colágeno formado por 19 repetições de Gly-X-Y, provavelmente em seu domínio extracelular. A estrutura genômica do gene *EDI* foi estabelecida e a sequência completa dos sete novos exons foi determinada em 18 pacientes do sexo masculino afetados por XLHED. Os resultados sugeriram que essa proteína mais longa desempenha um papel crítico na morfogênese de dentes, cabelos e glândulas sudoríparas, enquanto o significado biológico da forma mais curta da proteína permanece obscuro. A identificação de mutações nessas famílias portadoras de XLHED sugeriu que o diagnóstico molecular direto seria possível. Esse diagnóstico permitiria a detecção de portadoras em famílias com apenas um homem afetado e possibilitaria o diagnóstico diferencial entre XLHED, ARHED e ADHED.

Bayés et al. (1998) construíram o mapa completo do gene *EDI* e também caracterizaram o transcrito maior que codifica a proteína Ectodisplasina-A, que possui 391 aminoácidos e um pequeno domínio de colágeno, sendo altamente homóloga à proteína de camundongos conhecida como Tabby-A (Ta-A). Além disso, quatro novos transcritos, que codificam proteínas truncadas pela ausência do domínio de colágeno, também foram detectados. As formas variantes normais, características de todas as pessoas, mostraram diferentes padrões de expressão em oito tecidos analisados, sugerindo um mecanismo regulatório para a expressão gênica. Os autores determinaram a organização genômica e os limites exon-intron do gene *EDI* e observaram que o gene consiste de pelo menos 12 exons, pois três novos exons foram encontrados entre os exons 1 e 2. Para se evitar confusão que poderia ser gerada por uma mudança de nome de todos os exons, os autores os denominaram exons 1c, 1d e 1e (Figura 2.1). Na realidade, esses novos exons são provenientes de processamento alternativo, onde porções do que se considera intron 1, em relação à ectodisplasina-A, passam a ser transcritas.

Kobielak et al. (2001) e Vincent et al. (2001) afirmam que não há correlação óbvia entre o tipo de mutação e a gravidade do fenótipo. O padrão de inativação preferencial do cromossomo X parece ter pouca relação com a expressividade da displasia em mulheres portadoras (VINCENT et al., 2001).

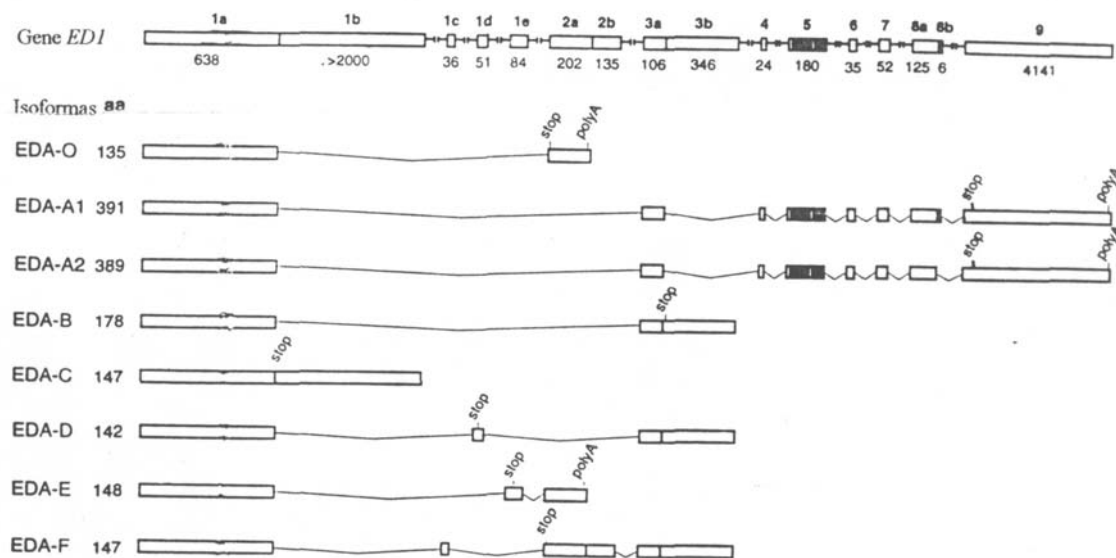


FIGURA 2.1 – O GENE *EDI* E SEUS TRANSCRITOS COM DIFERENTES PROCESSAMENTOS ALTERNATIVOS

FONTE: Bayés et al. (1998).

NOTA: Os exons são representados por retângulos numerados a partir do final 5' e os seus tamanhos (pb) estão assinalados sob cada um deles. Os retângulos escurecidos representam sequências que codificam as repetições G-X-Y. As posições correspondentes aos códons de terminação (stop) e sinalização de cauda poli-A (polyA) também estão indicadas. aa, número de aminoácidos.

### 2.3.1.2 Variabilidade do gene *EDI*

Em 2001, Pääkkönen et al. classificaram as mutações do gene *EDI* em quatro grupos, de acordo com a região alterada na proteína: junção dos domínios transmembrânico e extracelular; sítio proteolítico próprio para a ação da enzima furina, possivelmente comprometendo a clivagem da ectodisplasina; domínio de trimerização do colágeno; domínio homólogo ao Fator de Necrose Tumoral, TNF (PÄÄKKÖNEN et al., 2001; SCHNEIDER et al., 2001).

Monreal, Zonana e Ferguson (1998) encontraram mutações supostamente responsáveis pela displasia em 95% das famílias daqueles 18 homens afetados, incluindo 12 com troca de sentido, uma de término de cadeia e quatro deleções.

Hertz et al. (1998) estudaram nove famílias dinamarquesas com indivíduos portadores de XLHED e detectaram, em uma delas, uma mutação no nucleotídeo 402 do exon 1, onde uma citosina estava substituída por uma timina, levando à substituição de uma histidina por uma tirosina na posição 54 da cadeia polipeptídica. A análise foi realizada por PCR-SSCA e observou-se que essa mutação é segregada com a displasia, tendo sido a primeira mutação descrita no gene *EDI* que afeta o domínio transmembrânico da proteína.

Martínez et al. (1999) encontraram a substituição de uma timina por uma guanina no nucleotídeo 406, levando a uma alteração de leucina para arginina na posição 55 da cadeia polipeptídica. Essa alteração foi encontrada no exon 1, sugerindo que a substituição desse aminoácido interromperia o domínio transmembrânico, levando à displasia apresentada por essa família. Além do mais, essa mutação não foi encontrada em 50 indivíduos normais estudados.

Yotsumoto et al. (1998) realizaram um estudo em uma família japonesa na qual o probando era um menino de 10 anos de idade, que apresentava as características clássicas de XLHED, entre elas febres recorrentes associadas à falta de glândulas sudoríparas e relataram uma nova mutação de ponto no gene *EDI*, onde uma citosina é substituída por uma guanina no nucleotídeo 425, resultando na formação de um códon de terminação no aminoácido 61 que leva a um truncamento da porção extracelular da proteína. Aoki, Ito e Tachibana (2000) encontraram outra mutação em uma família japonesa, onde uma citosina é substituída por uma adenina no nucleotídeo 708, levando à substituição de uma arginina por uma serina no aminoácido 156.

Bayés et al. (1998) também realizaram análise por SSCA dos exons correspondentes à EDA-A, o que permitiu a identificação de mutações em 12 entre 15 pacientes estudados. Três dessas mutações levaram à remoção de duas ou quatro das repetições Gly-X-Y, sem interromper o padrão de leitura, sugerindo, desta forma, um papel funcional para o domínio de colágeno.

Em seu trabalho de mestrado, Visinoni (2002) analisou o gene *EDI* em quatro famílias brasileiras, encontrando mutações em duas delas. A primeira mutação, encontrada no exon 5, se tratava da mesma deleção de quatro das repetições Gly-X-Y

citada acima. A outra é uma mutação inédita, representada pela deleção de uma de duas guaninas (posição 966 ou 967) do exon 6, que resulta na alteração do quadro de leitura e leva a um término precoce da tradução (VISINONI et al., 2003).

A tabela 2.1 relaciona as mutações do gene *EDI* identificadas como responsáveis pelo fenótipo XLHED, em revisão feita por Visinoni et al. (2003), representadas de acordo com a nomenclatura para descrição de variações de sequências nucleotídicas humanas, proposta por den Dunnen e Antonarakis (2001).

TABELA 2.1 – MUTAÇÕES NO GENE *EDI* RELACIONADAS COM O FENÓTIPO XLHED

Continua

ALTERAÇÃO DE NUCLEOTÍDEO <sup>a</sup>	EXON	INTRON	EFEITO NO POLIPEPTÍDEO	REFERÊNCIA
<b>Domínio Intracelular (aminoácidos 1 a 40)</b>				
<i>c.288_289insC</i>	1		p.16fs	Kere et al. (1996)
<i>c.302_309insGGGAGCGA</i>	1		p.21fsX38	Bayés et al. (1998)
<i>c.309C&gt;T</i>	1		p.Q23X	Ferguson et al. (1998)
<b>Domínio Transmembrânico (aminoácidos 41 a 62)</b>				
<i>c.363-364insC</i>	1		p.41fs	Kere et al. (1996)
<i>c.402C&gt;T</i>	1		p.H54Y	Hertz et al. (1998)
<i>c.406T&gt;G</i>	1		p.L55R	Martínez et al. (1999)
<i>c.423T&gt;C</i>	1		p.Y61H	Kere et al. (1996)
<i>c.425C&gt;G</i>	1		p.Y61X	Yotsumoto et al. (1998)
<i>c.427delT</i>	1		p.62fs	Ferguson et al. (1998)
<b>Domínio Extracelular (aminoácidos 63 a 391)</b>				
<i>c.429G&gt;A</i>	1		p.E63K	Ferguson et al. (1998)
<i>c.448G&gt;T</i>	1		p.R69L	Kere et al. (1996)
<i>c.494delT</i>	1		p.85fs	Kere et al. (1996)
<i>c.593_595delCCinsG</i>	1		p.118fs	Ferguson et al. (1998)
<i>c.624C&gt;T</i>	1		p.Q128X	Schneider et al. (2001)
<i>c.636C&gt;T</i>	1		p.Q132X	Kere et al. (1996)
Deleção do exon 1	1		Sem produto	Pääkkönen et al. (2001)
<b>Sub-domínio de Clivagem pela Furina (aminoácidos 150 a 159)</b>				
<i>c.699C&gt;T</i>	3		p.R153C	Schneider et al. (2001)
<i>c.705C&gt;T</i>	3		p.R155C	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.708C&gt;T</i>	3		p.R156C	Bayés et al. (1998) Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.708C&gt;A</i>	3		p.R156S	Aoki et al. (2000)
<i>c.709G&gt;A</i>	3		p.R156H	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.713_714insT</i>	3		p.K158X	Kobielak et al. (2001)
<i>c.716 A&gt;T</i>	3		p.K158N	Schneider et al. (2001)
Deleção do exon 3	3		p.133_167del, 168fsX279	Bayés et al. (1998)
<b>Sub-domínio de Colágeno (aminoácidos 180 a 235)</b>				
<i>c.789_824 a c.795_830del36<sup>b</sup></i>	5		p.181_192del Deleção (G-X-Y <sup>c</sup> )4	Bayés et al. (1998); Monreal, Zonana e Ferguson (1998); Schneider et al. (2001)
<i>c.801_818 a c.814_831del18<sup>b</sup></i>	5		p.186_191del Deleção (G-X-Y <sup>c</sup> )2	Bayés et al. (1998)
<i>c.804_831del28</i>	5		p.188_197del, 198fsX279	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.808G&gt;A</i>	5		p.G189E	Schneider et al. (2001)
<i>c.836_841insC</i>	5		p.201fsX239	Bayés et al. (1998)
<i>c.837_855del19</i>	5		p.199_204del, 205fs	Schneider et al. (2001)
<i>c.861G&gt;A</i>	5		p.G207R	Schneider et al. (2001)
<i>c.868C&gt;T</i>	5		p.P209L	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.891_908 a c.901_918del18<sup>b</sup></i>	5		Deleção (G-X-Y <sup>c</sup> )2	Bayés et al. (1998)
<i>c.895G&gt;A</i>	5		p.G218D	Schneider et al. (2001)

TABELA 2.1 – MUTAÇÕES NO GENE *EDI* RELACIONADAS COM O FENÓTIPO XLHED

				Conclusão
ALTERAÇÃO DE NUCLEOTÍDEO <sup>a</sup>	EXON	INTRON	EFEITO NO POLIPEPTÍDEO	REFERÊNCIA
<b>Sub-domínio de Colágeno (aminoácidos 180 a 235)</b>				
<i>c.905_939del35</i>	5		p.221_233del, 234fsX239	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.913G&gt;C</i>	5		p.G224A	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.948-2 (IVS5-2) A&gt;G</i>		5	Processamento alterado	Bayés et al. (1998)
<i>c.966delG</i>	6		p.242fsX279	Visinoni et al. (2003)
<i>c.967_974del8</i>	6		p.243fsX279	Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.972C&gt;T</i>	6		p.R244X	Schneider et al. (2001)
<i>c.983-2 (IVS6-2) A&gt;G</i>		6	Processamento alterado	Pääkkönen et al. (2001)
<b>Sub-domínio semelhante ao TNF (aminoácidos 250 a 391)</b>				
<i>c.997A&gt;T</i>	7		p.H252L	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.1005G&gt;T</i>	7		p.G255C	Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.1006G&gt;A</i>	7		p.G255D	Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.1008C&gt;T</i>	7		p.Q256X	Schneider et al. (2001)
<i>c.1062T&gt;G</i>	8		p.W274G	Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.1064G&gt;A</i>	8		p.W274X	Schneider et al. (2001) Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.1113G&gt;A</i>	8		p.G291R	Bayés et al. (1998)
<i>c.1113G&gt;T</i>	8		p.G291W	Bayés et al. (1998)
<i>c.1134G&gt;C</i>	8		p.D298H	Bayés et al. (1998)
<i>c.1137G&gt;A</i>	8		p.G299S	Bayés et al. (1998); Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.1166+ 5 (IVS8+5) G&gt;A</i>		8	Processamento alterado	Schneider et al. (2001)
<i>c.1166+8 (IVS8+8) C&gt;G</i>		8	Processamento alterado	Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.1201A&gt;G</i>	9		p.Y320C	Schneider et al. (2001)
<i>c.1203 G&gt;T</i>	9		p.E321X	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.1237G&gt;A</i>	9		p.C332Y	Pääkkönen et al. (2001)
<i>c.1270A&gt;G</i>	9		p.Y343C	Schneider et al. (2001)
<i>c.1287G&gt;A</i>	9		p.A349T	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.1309C&gt;A</i>	9		p.A356D	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.1312G&gt;C</i>	9		p.R357P	Monreal, Zonana e Ferguson (1998)
<i>c.1321T&gt;A</i>	9		p.I360N	Kobielak et al. (2001)
<i>c.1364C&gt;A</i>	9		p.S374R	Schneider et al. (2001)
<i>c.1374A&gt;C</i>	9		p.T378P	Schneider et al. (2001)
<i>c.1375C&gt;T</i>	9		p.T378M	Schneider et al. (2001)

NOTAS: <sup>a</sup> A numeração inicia-se no primeiro nucleotídeo do exon 1. Alguns trabalhos seguem numeração que se inicia no nucleotídeo 243 desse mesmo exon. <sup>b</sup> O início exato da deleção não pôde ser determinado precisamente, pois vários pontos de quebra alternativos resultariam na mutação observada. <sup>c</sup> X-Y, dois aminoácidos aleatórios.

### 2.3.2 A proteína ectodisplasina

A ectodisplasina é uma proteína transmembrânica que, através de processamento alternativo do transcrito primário do gene *EDI*, se apresenta em diferentes isoformas. A primeira isoforma encontrada, contendo 135 resíduos de aminoácidos, é atualmente chamada de Ectodisplasina-O, por representar a forma originalmente descrita da proteína (KERE et al., 1996; BAYÉS et al., 1998). Ainda não se sabe ao certo a função desta forma da proteína, mas devido à presença do domínio transmembrânico, sugere-se que parte dela poderia estar localizada na porção externa da membrana celular (EZER et al., 1999) onde atuaria na interação ectoderme-mesoderme (EZER et al., 1997).

A segunda isoforma, descrita por Monreal, Zonana e Ferguson (1998) e formada por 391 aminoácidos, consiste na forma mais longa da ectodisplasina e é atualmente chamada de ectodisplasina-A1. Uma outra forma, chamada de ectodisplasina-A2, difere da A1 pela ausência de apenas dois aminoácidos. Além destas três formas, a ectodisplasina assume ainda mais cinco diferentes cadeias, com 178, 147, 142, 148 e 147 aminoácidos, denominadas, respectivamente, ectodisplasina-B, -C, -D, -E e -F (Figura 2.1), cujo significado biológico ainda não é conhecido (BAYÉS et al., 1998). Todos os transcritos que dão origem a estas oito formas da proteína conservam o mesmo exon 1a, que codifica para um pequeno domínio intracelular (EZER et al., 1999).

A ectodisplasina-A (EDA-A1 e -A2) é uma proteína membrânica trimérica do tipo II, com um pequeno domínio N-terminal intracelular e uma grande porção C-terminal extracelular e está associada a estruturas do citoesqueleto (BAYÉS et al., 1998; MONREAL; ZONANA; FERGUSON, 1998; YAN et al., 2000). Pertence à superfamília dos ligantes do TNF, e sua localização na membrana celular é assimétrica, sendo encontrada nas superfícies lateral e apical das células. Está envolvida no processo precoce de interação epitélio-mesenquimal, que regula a formação de estruturas ectodérmicas (EZER et al., 1999). De todas as formas da



ectodisplasina, obtidas por processamento alternativo (BAYÉS et al., 1998), apenas as isoformas EDA-A1 e EDA-A2 possuem o domínio extracelular semelhante ao TNF (CHEN et al., 2001).

A porção extracelular da proteína é formada por dois domínios separados por um segmento de colágeno formado por 19 repetições de Gly-X-Y, sendo que o motivo do TNF ocupa a porção mais carboxi-terminal deste domínio extracelular. O outro domínio extracelular é formado por uma haste que separa o domínio do TNF da superfície celular. É nesse segundo domínio que se localiza o sítio de proteólise da furina, próximo à junção da sequência de colágeno (Figura 2.2).

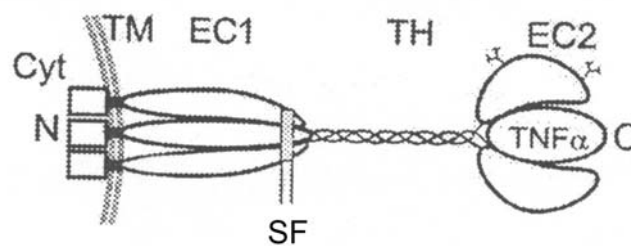


FIGURA 2.2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA PROTEÍNA EDA-A

FONTE: Chen et al. (2001).

NOTAS: Cyt: citoplasma; N: região N-terminal; TM: domínio transmembrânico; EC1: primeiro domínio extracelular e que contém o sítio de clivagem da enzima furina (SF); TH: domínio tripla-hélice de colágeno; EC2: segundo domínio extracelular e que contém o motivo semelhante ao TNF; e C: região C-terminal.

A furina é uma endoprotease associada à membrana celular capaz de clivar precursores de uma grande quantidade de proteínas, tais como fatores de crescimento e proteínas séricas, inclusive proteases da coagulação sanguínea e do sistema complemento (NAKAYAMA, 1997). Essa enzima cálcio dependente cliva a ectodisplasina, produzindo um fragmento C-terminal formado pela sequência de colágeno e pelo motivo TNF (ELOMAA et al., 2001). A produção deste fragmento

pela furina está relacionada com a capacidade da EDA de regulação ou de sinalização entre as células (CHEN et al., 2001).

O sub-domínio homólogo ao TNF é similar ao de outros membros da família do TNF, principalmente TNF $\alpha$ , Linfotoxina  $\alpha$  (LT- $\alpha$ ) e ligante CD40 (MIKKOLA et al., 1999). Essa estrutura tridimensional consiste em 10 cadeias B-pregueadas antiparalelas unidas por um número variável de dobras. Os ligantes da família do TNF homotrimerizam para formar uma estrutura quaternária capaz de se ligar a uma molécula receptora em cada interface monômero-monômero. Este ligante possui sequência consenso para a clivagem, através da proteína proteolítica furina, no seu domínio extracelular. A capacidade da ectodisplasina de se ligar a um receptor específico, bem como seu processamento proteolítico que produz uma forma solúvel, é fundamental para sua ação *in vivo* (ELOMAA et al., 2001, SCHNEIDER, et al., 2001).

Os membros da família do TNF que possuem maior similaridade na sequência de aminoácidos com a ectodisplasina são os ligantes APRIL (MIKKOLA et al., 1999), BAFF/BLyS e TWEAK (LOCKSLEY; KILLEEN; LENARDO, 2001; SCHNEIDER et al., 2001). Os genes que codificam para estas proteínas estão localizados nos cromossomos 17 (APRIL e TWEAK) e 13 (BLyS/BAFF). Embora nenhum desses ligantes possua as repetições semelhantes ao colágeno, todos eles possuem sequência consenso para a ação proteolítica da enzima furina em seus domínios extracelulares (LOCKSLEY; KILLEEN; LENARDO, 2001; SCHNEIDER et al., 2001).

De acordo com Montonen et al. (1998), o gene *EDI* inicia sua expressão a partir da oitava semana de gestação, quando a ectodisplasina é detectada em células epidérmicas e neuroectodérmicas. Na 12<sup>a</sup> semana a proteína é detectada em osteoblastos e células do timo, enquanto que no folículo piloso sua presença é observada a partir da 18<sup>a</sup> semana. Além disso, a ectodisplasina também foi detectada em órgãos adultos, tais como glândulas mamárias, glândulas epiteliais, folículo piloso e queratinócitos.

Por outro lado, Tucker et al. (2000) demonstram a expressão do gene *Tabby* a partir do décimo segundo dia da embriogênese do camundongo. Nesse período, a

ectodisplasina foi detectada na região bucal, onde a interação EDA-EDAR está relacionada à regulação da formação do nó de esmalte<sup>1</sup> durante a odontogênese.

A forma A2 da ectodisplasina (EDA-A2) liga-se a um receptor cujo gene está localizado no cromossomo X, e por esse motivo foi denominado receptor XEDAR. A função desse par de ligante-receptor ainda não foi esclarecida (YAN et al., 2000).

A ação produzida pela ligação de EDA-A1 com seu receptor será descrita mais detalhadamente no item 2.3.5.

### 2.3.3 O gene *EDAR* e o receptor EDAR

O gene *EDAR*, homólogo ao gene *Downless (DL)* do camundongo, é, como já referido, responsável pelas formas autossômicas da displasia e está localizado na região proximal do braço longo do cromossomo 2, 2q11-q13 (HO; WILLIAMS; SPRITZ, 1998). Nesse gene, há mutações cuja herança é recessiva e outras de herança dominante (MONREAL et al., 1999). Esse gene foi clonado em humanos e camundongos e foi verificado que ele também se expressa no epitélio, codificando um receptor para a ectodisplasina-A1, chamado Receptor para a Ectodisplasina-A (EDAR). EDAR é uma proteína transmembrânica com domínios homólogos aos da família dos receptores de TNF (HEADON e OVERBEEK, 1999). As homologias do TNF (e de seu receptor) com essas duas proteínas, EDA e EDAR, sugerem que elas formam um par de ligante-receptor (CHEN et al., 2001) em uma via metabólica que participa do desenvolvimento de estruturas ectodérmicas (ELOMAA et al., 2001).

---

<sup>1</sup> Nó de esmalte é a porção central do órgão do esmalte, formado por células densamente agrupadas, que dará origem, através de sua expansão lateral, ao cordão de esmalte. Ambas as estruturas são temporárias e desaparecerão antes do início da formação do esmalte. Sugere-se que a função dessas duas estruturas, nó e cordão de esmalte, seja a de reservatório de células para o órgão de esmalte em desenvolvimento (BHASKAR, 1989).

### 2.3.4 O gene *EDARADD* e seu produto

Esse gene, que se localiza no braço longo do cromossomo 1 (1q42.2-q43), é responsável pela codificação de um adaptador que interage com um domínio de EDAR, ligando esse receptor à via de sinalização. Essa interação se dá através dos domínios de morte celular, tanto do receptor quanto do adaptador (HEADON et al., 2001).

Como será descrito no item a seguir, a interação EDAR-EDARADD é importante no processo de sinalização necessário para o desenvolvimento de estruturas ectodérmicas (ELOMAA et al., 2001).

### 2.3.5 Interação das ectodisplasinas-A com seus receptores

A isoforma EDA-A1 da ectodisplasina se liga especificamente a EDAR, um membro da família dos receptores de TNF (TNFR) e que é codificado pelo gene *EDAR*, localizado no cromossomo 2. A isoforma EDA-A2, por sua vez, se liga a outro receptor da superfamília dos receptores de TNF, XEDAR. Este receptor é codificado por um gene chamado *XEDAR*, localizado na região proximal do braço longo do cromossomo X (Xq12) (YAN et al., 2000; TUCKER, et al., 2000).

A ectodisplasina-A é um membro da família de ligantes do TNF, sugerindo que mutações no gene *EDI* poderiam levar a falhas na sinalização requerida para o desenvolvimento normal dos tecidos epiteliais, pois os ligantes TNF produzem sinais que podem levar à proliferação, sinalização ou à apoptose (COSMAN, 1994). A família do TNF está associada com inflamação, defesa do hospedeiro e câncer, mas recentemente novas funções têm sido descritas, incluindo a regulação da diferenciação de osteoclastos e da reabsorção óssea. A ectodisplasina e seu receptor constituem os primeiros membros das famílias do TNF e TNFR, que foram descritos como responsáveis na regulação da morfogênese embrionária (KOJIMA et al., 2000;

LAURIKKALA et al., 2001). Esse papel regulatório da EDA-A1 e de seu receptor, essencial para a correta formação de apêndices ectodérmicos, foi comprovado por Cui et al. (2002).

Da mesma forma que a EDA-A1 necessita da clivagem realizada pela enzima furina (para produzir a forma solúvel da proteína), o correto funcionamento do receptor EDAR depende da ação do adaptador EDARADD.

A necessidade de perfeito entrosamento entre EDA-A1, EDAR e EDARADD explica a heterogeneidade genética das displasias XLHED, ARHED e ADHED (HEADON et al., 2001), uma vez que o gene responsável pela codificação da primeira se localiza no cromossomo X, enquanto que os genes responsáveis pelas outras duas estão localizados em autossomos.

### 3 REVISÃO DAS DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A

Os resultados obtidos com a revisão das displasias ectodérmicas do grupo A foram utilizados para a elaboração de um trabalho científico (“Ectodermal Dysplasias: Clinical and Molecular Review” de Átila F. Visinoni, Toni Lisboa-Costa, Nina A. B. Pagnan e Eleidi A. Chautard-Freire-Maia), submetido à publicação no *American Journal of Medical Genetics* (Part A), em 18 de novembro de 2008. A seguir será apresentada uma versão em português deste trabalho, com algumas modificações.

#### DISPLASIAS ECTODÉRMICAS: Revisão Clínica e Molecular

#### INTRODUÇÃO

Displasias ectodérmicas (DEs), segundo a definição proposta por Freire-Maia (1971, 1977), são desordens congênitas raras caracterizadas por alterações em no mínimo duas estruturas ectodérmicas, sendo que ao menos uma dessas alterações ocorra em cabelos/pelos, dentes, unhas ou glândulas sudoríparas. Sugestões para uma nova definição e, conseqüentemente, uma nova classificação das DEs têm sido propostas. A principal razão é adequar o conhecimento clínico com as recentes descobertas na área molecular, que levaram à identificação de genes responsáveis por cerca de 30% das DEs. Em março de 2008, uma Conferência Internacional para Classificação das DEs, foi realizada em Charleston (EUA). Esse encontro, patrocinado principalmente pela *National Foundation for Ectodermal Dysplasias* (NFED) e pela *Medical University of South Carolina* (MUSC), teve o propósito de iniciar as discussões que pretendem levar a um consenso sobre a definição e classificação das DEs. Durante esse evento, classificações baseadas na função gênica foram discutidas. Contudo, nenhuma dessas classificações inclui todas as DEs, uma vez que apenas 62

delas já tiveram o seu gene (64 genes) ou sua região cromossômica (três regiões) identificados.

O objetivo deste estudo é atualizar a classificação clínica proposta por Freire-Maia e as revisões publicadas, incorporando recentes dados moleculares e clínicos, principalmente nas DEs do grupo A, que permitam a reavaliação da definição e da classificação de Freire-Maia e forneçam informações atualizadas para futuras discussões. Algumas DEs do grupo B foram incluídas nesta revisão, quando informações moleculares estavam disponíveis.

## **DEFINIÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E REVISÃO DAS DISPLASIAS ECTODÉRMICAS**

A definição deste grupo nosológico, proposta por Freire-Maia (1971, 1977), continua sendo apropriada, em nossa opinião, pois impõe limites claros acerca de o que é uma DE e também permite a classificação das diferentes entidades em grupos e subgrupos bem delineados.

É preciso fazer algumas considerações sobre esta definição. Em primeiro lugar, é importante enfatizar que uma DE deve ter etiologia genética. Em segundo lugar, quando a frequência das estruturas ectodérmicas envolvidas é computada, as quatro estruturas clássicas são mais frequentemente afetadas na seguinte ordem: cabelos/pelos, dentes, unhas e glândulas sudoríparas, associadas ou não a alterações em outros apêndices ectodérmicos. Esse fato fundamenta o critério para a classificação das DEs como descrito a seguir.

De acordo com a classificação de Freire-Maia, as DEs são divididas em duas categorias: Grupo A, que compreende todas as entidades com alterações em duas ou mais das quatro estruturas clássicas; e Grupo B, que compreende as afecções com alterações em apenas uma dessas estruturas somada a, pelo menos, um outro defeito ectodérmico.

O Grupo A é dividido em onze subgrupos de acordo com a associação das estruturas envolvidas: 1-2-3-4 (cabelos-dentes-unhas-glândulas sudoríparas); 1-2-3 (cabelos-dentes-unhas); 1-2-4 (cabelos-dentes-glândulas sudoríparas); 1-3-4 (cabelos-unhas-glândulas sudoríparas); 2-3-4 (dentes-unhas-glândulas sudoríparas); 1-2 (cabelos-dentes); 1-3 (cabelos-unhas); 1-4 (cabelos-glândulas sudoríparas); 2-3 (dentes-unhas); 2-4 (dentes-glândulas sudoríparas); 3-4 (unhas-glândulas sudoríparas). Similarmente, as afecções pertencentes ao Grupo B são classificadas com o número correspondente à estrutura básica afetada (1, 2, 3 ou 4) seguido do número 5 que indica outros defeitos ectodérmicos. Assim, os distúrbios deste grupo são divididos em quatro subgrupos: 1-5, 2-5, 3-5 e 4-5.

Alterações em outras estruturas de origem ectodérmica podem também ocorrer nas DEs. Observam-se alterações em glândulas mamárias, tireóide, timo, medula adrenal, sistema nervoso, orelha externa, córnea, conjuntiva, glândulas e dutos lacrimais (IRVINE, 2005) e glândulas de Meibomio (KAERCHER, 2004).

São chamadas de Displasias Ectodérmicas Puras as alterações com apenas sinais ectodérmicos, sem envolvimento de tecidos originários de outras camadas embrionárias. Por outro lado, Síndromes de Displasia Ectodérmica e Malformação são afecções que combinam sinais ectodérmicos e malformações, tais como fendas e fissuras lábio-palatinas (FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1984).

A definição de DE é usada no *lato sensu*, ou seja, no sentido amplo da palavra. DEs são simplesmente grupos de condições que apresentam alguns sinais ectodérmicos similares: um subgrupo inclui condições com alterações nas mesmas estruturas que podem estar afetadas de diferentes maneiras (FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1988). Em algumas DEs, consequentemente, os sinais cardinais podem não ser os defeitos mais importantes do quadro clínico. Por exemplo, na Síndrome de Ellis-van-Creveld, uma DE do subgrupo 1-2-3, as anomalias ósseas (nanismo e encurtamento dos membros, joelho valgo, poli/sindactilia) são clinicamente mais relevantes que as alterações em estruturas ectodérmicas. Outros exemplos para essa



situação são a Picnodisostose, e as Síndromes de Costello, Barber-Say e Otopalatodigital.

Algumas afecções que estariam abrigadas por essa definição são, muitas vezes, deixadas de fora da classificação de DEs pela prática comum. Isto acontece, por exemplo, com Paquioníquia congênita, Incontinentia pigmenti e Disceratose congênita (IRVINE, 2005). Contudo, não há impedimento que um distúrbio pertença a mais de uma classificação clínica. Por exemplo, uma DE que esteja associada a problemas imunológicos pode ser classificada como uma DE por um dermatologista ou como um tipo específico de distúrbio imunológico quando o paciente for examinado por um imunologista. Este fato pode facilitar o atendimento multidisciplinar do paciente, levando em consideração os aspectos clínicos relevantes em cada especialidade médica.

As outras classificações que estão sendo propostas atualmente (PRIOLO et al., 2000; PRIOLO e LAGANÀ, 2001; LAMARTINE, 2003; ITIN e FISTAROL, 2004) usam o conhecimento molecular como ponto de partida. A nossa opinião é que uma classificação baseada na função gênica ou em outros aspectos moleculares é, sem dúvida, de grande importância. Contudo, esse tipo de conhecimento ainda não está disponível para a maioria das DEs. Além do mais, membros da equipe clínica envolvida com DEs (pediatras, dermatologistas, oftalmologistas, médicos geneticistas, cirurgiões-dentistas, fisioterapeutas e outros profissionais) necessitam, em primeiro lugar, de um método claro e eficiente de diagnóstico quando estão examinando um paciente portador de DE. Apenas mais tarde, as informações sobre a etiologia serão utilizadas.

É por esta razão que consideramos adequada a coexistência de duas diferentes classificações para as DEs. A classificação clínica irá delinear claramente a condição, permitindo um diagnóstico rápido da afecção. A classificação baseada nos aspectos moleculares está sujeita a contínuas adições e modificações decorrentes de novas descobertas e permitirá organizar informações que poderão ser usadas em novas pesquisas, tais como o estudo das vias metabólicas e sinalização embrionária. Por essa

razão, esse tipo de classificação é importante para estudos futuros, pois permite explorar o conhecimento sobre a etiologia das DEs que possa levar ao desenvolvimento de procedimentos preventivos e terapêuticos. Exemplos do uso desses conhecimentos no tratamento das DEs podem ser observados em Gaide e Schneider (2003) e Casal et al. (2007) que trabalharam na correção permanente do fenótipo displásico da DE hipodrótica ligada ao X, pela administração de proteína recombinante em camundongos e cães, respectivamente.

Esta revisão lista 186 DEs do grupo A (Tabela 3.1). Considerando as revisões anteriores, algumas entidades foram agrupadas como sendo a mesma afecção e novas DEs foram adicionadas. Adotando um procedimento rigoroso que exclua as 26 DEs observadas em apenas um paciente e as afecções cujo conhecimento foi obtido através de comunicação pessoal, a classificação incluirá 157 diferentes entidades. Uma revisão atualizada sobre os genes condicionantes de DEs também é mostrada.

Os nomes das afecções incluídas na tabela 3.1 foram mantidos em inglês para que não ocorresse a alteração da ordem alfabética em relação ao artigo submetido ao *Am. J. Med. Genet.* Além disso, a maioria delas possui entrada no *Online Mendelian Inheritance in Man*, OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>), com a denominação em inglês adotada nesta revisão. Para que houvesse uniformidade, esses nomes também foram mantidos em inglês nas demais tabelas. Como a tradução para português ocorre de maneira literal, acredita-se que isto não dificultará o entendimento do leitor.

TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

Continua

Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo pelos-dentes-unhas-glândulas sudoríparas. N = 42, Casos únicos = 4</b>		
1 <i>Acrorenal field defect, ED, and lipoatrophic diabetes (AREDYLD)</i>	207780	AR
2 <i>Alopecia-contractures-dwarfism mental retardation syndrome</i>	203550	AR
3 <i>Ankyloblepharon-ectodermal defects-cleft lip/palate syndrome (AEC; Hay-Wells syndrome)</i>	106260	AD
4 <i>Anonychia with flexural pigmentation</i>	106750	AD
5 <i>Arthrogryposis and ED</i>	601701	AR
6 <i>Camarena syndrome</i>	Freire-Maia e Pinheiro, 1984 (Com. pess.)	AD?; XD?
7 <i>Carey syndrome (Caso único)</i>	Freire-Maia e Pinheiro, 1984 (Com. pess.)	?
8 <i>Cleft lip/palate-ED syndrome (CLPEDI; Zlotogora-Ogur syndrome; Margarita Island syndrome)</i>	225060	AR
9 <i>Curly hair-acral keratoderma-carries syndrome</i>	Van Steensel et al., 2001	AD
10 <i>Dyskeratosis congenita, AD (Dyskeratosis congenita, Scoggins type)</i>	127550	AD
11 <i>Dyskeratosis congenita, AR</i>	224230	AR
12 <i>Dyskeratosis congenita, X-linked (Zinsser-Cole-Engman syndrome)</i>	305000	XR
13 <i>Ectrodactyly, ED, and cleft lip/palate syndrome (EEC1)</i>	129900	AD
14 <i>Ectrodactyly, ED, and cleft lip/palate syndrome 3 (EEC3)</i>	604292	AD
15 <i>ED hypohidrotic, with acanthosis nigricans (Lelis syndrome)</i>	608290	?
16 <i>ED with alopecia, onychodysplasia, hypohidrosis, keratoderma, abnormal teeth and deafness (Caso único)</i>	Akhyani e Kiavash, 2007	AR?
17 <i>ED with cardiac and skeletal abnormalities (Caso único)</i>	Lipson, 1988	?
18 <i>ED with mental retardation and syndactyly (Caso único)</i>	600906	AR?
19 <i>ED with natal teeth, Turnpenny type</i>	601345	AD
20 <i>ED, Caratinga type</i>	Montebelo et al., 1996	AD?; XD?
21 <i>ED, hypohidrotic, with hypothyroidism and agenesis of the corpus callosum</i>	225040	AD?; AR?; XD?
22 <i>Focal dermal hypoplasia (FDH)</i>	305600	XD
23 <i>Hypohidrotic ED, autosomal dominant (ADHED)</i>	129490	AD
24 <i>Hypohidrotic ED, autosomal recessive (ARHED)</i>	224900	AR
25 <i>Hypohidrotic ED, X-linked (XLHED; Christ-Siemens-Touraine syndrome; CST syndrome)</i>	305100	XR
26 <i>Hypohidrotic ED with immune deficiency</i>	300291	XD
27 <i>Hypohidrotic ED with immunodeficiency, osteopetrosis, and lymphedema (OLEDAID syndrome)</i>	300301	XD
28 <i>Hypomelanosis of Ito (HMI, Incontinentia pigmenti type I; IPI)</i>	300337	XD
29 <i>Keratitits-ichthyosis-deafness syndrome, autosomal dominant (KID syndrome, AD)</i>	148210	AD
30 <i>Keratitits-ichthyosis-deafness syndrome, autosomal recessive (KID syndrome, AR)</i>	242150	AR
31 <i>Naegeli-Franceschetti-Jadassohn syndrome (NFJS)</i>	161000	AD
32 <i>Odontoonychodermal dysplasia (OODD)</i>	257980	AR

TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

Continua

Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo pelos-dentes-unhas-glândulas sudoríparas. N = 42, Casos únicos = 4</b>		
33 <i>Odontotrichomelic syndrome</i>	273400	AR
34 <i>Pachyonychia congenita, type 1 (PC1)</i>	167200	AD
35 <i>Pachyonychia congenita, type 2 (PC2)</i>	167210	AD
36 <i>Papillon-Lefevre syndrome</i>	245000	AR
37 <i>Rapp-Hodgkin syndrome</i>	129400	AD
38 <i>Rosselli-Gulienetti syndrome</i>	225000	AR
39 <i>Scalp-ear-nipple syndrome (Finlay-Marks syndrome; ED with adrenal cyst)</i>	181270; 129550	AD
40 <i>Tricho-odonto-onychodysplasia with pili torti</i>	Freire-Maia e Pinheiro, 1984 (Com. pess.)	AD?; XD?
41 <i>Tricho-onycho-dental dysplasia (TOD)</i>	Koshiba et al., 1978	AD
42 <i>Xeroderma-talipes-enamel defects (XTE)</i>	Moynahan, 1970	AR
<b>Subgrupo pelos-dentes-unhas. N = 43, Casos únicos = 10</b>		
43 <i>Ackerman syndrome</i>	200970	AR
44 <i>ADULT syndrome</i>	103285	AD
45 <i>Arthrogryposis, ED, cleft lip/palate, and developmental delay</i>	301815	XR
46 <i>Cardiofaciocutaneous syndrome (CFC)</i>	115150	AD
47 <i>Clouston syndrome</i>	129500	AD
48 <i>Coffin-Siris syndrome</i>	135900	AD?; AR?; XD?
49 <i>Costello syndrome</i>	218040	AR
50 <i>Cranioectodermal dysplasia (Sensenbrenner syndrome)</i>	218330	AR
51 <i>Dermoodontodysplasia</i>	125640	AD
52 <i>Dolichocephaly, dental defects, trichodysplasia</i>	Freire-Maia e Pinheiro, 1984 (Com. pess.)	AD
53 <i>Ectodermal defect with skeletal abnormalities (Caso único)</i>	Wallace, 1958	?
54 <i>ED syndrome with distinctive facial appearance and preaxial polydactyly of feet (Caso único)</i>	129540	AD?
55 <i>ED with pillous anomaly and syndactyly</i>	Wiedemann, Grosse e Dibbern, 1980	AR
56 <i>ED with tetramelic deficiencies (Caso único)</i>	Zankl; Sheffer e Schinzel, 2004	?
57 <i>ED, cleft lip/palate, and severe cutaneous and osseous syndactyly and mental retardation (Caso único)</i>	Freihofer, Walji e Brunner, 1997	?
58 <i>ED, trichoodontoonychial type</i>	129510	AD
59 <i>Ellis-van Creveld syndrome (EVC)</i>	225500	AR
60 <i>GOMBO syndrome</i>	233270	AR
61 <i>Growth retardation, alopecia, pseudoanodontia, and optic atrophy (GAPO syndrome)</i>	230740	AR
62 <i>Hidrotic ED autosomal recessive (Fried's tooth and nail syndrome)</i>	602401	AR

TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

Continua

Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo pelos-dentes-unhas. N = 43, Casos únicos = 10</b>		
63 <i>Hypoplasia of nails, malformations of hands and feet, curly hair, microdontia, seizures</i> (Caso único)	Cortes e Lacassie, 1986	?
64 <i>Hypotrichosis with pili bifurcati</i>	Beemer, Bruynzell-Koomen e Happle., 1987	AR?
65 <i>Incontinentia pigmenti</i> (IP2)	308300	XD
66 <i>Mesomelic dwarfism-skeletal abnormalities-ED</i> (Caso único)	Brunoni, 1984	?
67 <i>Oculotrichodysplasia</i> (OTD)	257960	AR
68 <i>Odonto-onychodysplasia-alopecia</i>	Pinheiro e Freira Maia, 1981	AR
69 <i>Odontotrichoungual-digital-palmar syndrome</i>	601957	AD?; XD?
70 <i>Osteosclerosis and ED</i> (Caso único)	Côté e Katsantoni, 1982	AR
71 <i>Pilo-dento-ungular dysplasia with microcephaly</i> (Caso único)	Tajara, Pinheiro e Freire-Maia, 1987	AR
72 <i>Pineal hyperplasia, insulin-resistant diabetes mellitus, and somatic abnormalities</i>	262190	AR
73 <i>Rothmund-Thomson syndrome</i> (RTS)	268400	AR
74 <i>Šalamon-Miličević syndrome</i> (Caso único)	Šalamon e Miličević, 1964	AR
75 <i>Schinzel-Giedion midface-retraction syndrome</i>	269150	AR?; AD?
76 <i>Schöpf-Schulz-Passarge syndrome</i>	224750	AR
77 <i>Sener syndrome</i>	606156	?
78 <i>Thumb deformity and alopecia</i>	188150	AD
79 <i>Trichodentoosseus syndrome</i> (TDO)	190320	AD
80 <i>Tricho-dermodysplasia-dental defects</i>	Pinheiro et al., 1986	AD?; XD?
81 <i>Trichoodontoonychia dysplasia</i>	275450	AR?
82 <i>Tricho-odonto-onycho-dermal syndrome</i> (Caso único)	Pinheiro; Pereira; Freire-Maia, 1981	?
83 <i>Trichorhinophalangeal syndrome, type I</i> (TRPS1)	190350	AD
84 <i>Trichothiodystrophy, photosensitive</i> (TTDP)	601675	AR
85 <i>Witkop syndrome</i>	189500	AD
<b>Subgrupo pelos-dentes-glândulas sudoríparas. N = 10, Casos únicos = 2</b>		
86 <i>Böök syndrome</i>	112300	AD
87 <i>Cleft lip/palate, ED, acral anomalies</i>	Richieri-Costa et al., 1992	AR
88 <i>Hypohidrotic ED with focal sweating</i>	Gorlin, 1988	AR?; XR?
89 <i>Ichthyosis follicularis, atrichia, and photophobia syndrome</i> (IFAP)	308205	XR
90 <i>Johnson neuroectodermal syndrome</i>	147770	AD
91 <i>Lenz-Passarge dysplasia</i>	Lenz, 1963	XD
92 <i>Leukomelanoderma, infantilism, mental retardation, hypodontia, hypotrichosis</i>	246500	AR

TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

Continua

Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo pelos-dentes-glândulas sudoríparas. N = 10, Casos únicos = 2</b>		
93 <i>Regional ED with total bilateral cleft</i> (Caso único)	Fára, 1971	?
94 <i>Ulnar-mammary syndrome (UMS)</i>	181450	AD
95 <i>Wesser-Vistnes ED with palatal paralysis</i> (Caso único)	Wesser e Wistnes, 1969	?
<b>Subgrupo pelos-unhas-glândulas sudoríparas. N = 8, Casos únicos = 4</b>		
96 <i>Alopecia-onichodysplasia-hypohidrosis-deafness</i> (Caso único)	Freire-Maia, Cat e Rapone-Gaidzinski, 1977	?
97 <i>Alopecia-skin atrophy-anonychia-tongue defects</i>	Sequeiros e Sack, 1985	?
98 <i>ED with digital and eye anomalies</i> (Caso único)	Viljoen e Winship, 1988	?
99 <i>ED with severe mental retardation</i> (Caso único)	Kirman, 1955	?
100 <i>ED, hypohidrotic, with hypothyroidism and ciliary dyskinesia (HEDH syndrome)</i>	225050	AR
101 <i>ED/skin fragility syndrome</i>	604536	AR
102 <i>Fischer-Volavsek syndrome</i>	Fischer, 1921	AD
103 <i>Trichodysplasia-onychogryposis-hypohidrosis-cataract</i> (Caso único)	Freire-Maia et al., 1975	?
<b>Subgrupo dentes-unhas-glândulas sudoríparas. N = 2</b>		
104 <i>Ameloonychohypohidrotic syndrome</i>	104570	AD
105 <i>Limb-mammary syndrome (LMS)</i>	603543	AD
<b>Subgrupo pelos-dentes. N = 32, Casos únicos = 3</b>		
106 <i>Barber-Say syndrome</i>	209885	AR?; AD?; XD?
107 <i>Blepharocheilodontic syndrome</i>	119580	AD
108 <i>Brachymetapody-anodontia-hypotrichosis-albinoidism</i>	211370	AR
109 <i>Cataract, hypertrichosis, mental retardation syndrome (CAHMR syndrome)</i>	211770	AR
110 <i>Cerebellar ataxia and ED</i>	212835	AR
111 <i>Cleft lip/palate-oligodontia-syndactyly-hair defects</i>	Martínez et al., 1987	AD?; XD?
112 <i>Congenital atrichia, palmoplantar hyperkeratosis, mental retardation, and early loss of teeth</i>	Steijlen et al., 1994	AR?
113 <i>Craniotubular dysplasia with severe postnatal growth retardation, mental retardation, ED</i> (Caso único)	Nishimura et al., 1997	?
114 <i>Distal arthrogryposis, ED and dilated cardiomyopathy</i> (Caso único)	Parker et al., 1998	AR?
115 <i>Dubowitz syndrome</i>	223370	AR
116 <i>ED and neurosensory deafness</i>	224800	AR
117 <i>ED, Cape Verde</i>	Werninghaus, 1993	AR
118 <i>ED, ectrodactyly, and macular dystrophy (EEM syndrome)</i>	225280	AR
119 <i>Gingival fibromatosis with hypertrichosis</i>	135400	AD
120 <i>Gingival fibromatosis-sparse hair-malposition of teeth</i> (Caso único)	Jorgenson, 1971	AR
121 <i>Gorlin-Chaudhry-Moss syndrome</i>	233500	AR

TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

Continua

Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo pelos-dentes. N = 32, Casos únicos = 3</b>		
122 <i>Hallermann-Streiff syndrome (HSS)</i>	234100	AR
123 <i>Hypertrichosis universalis</i>	145700	AD
124 <i>Johanson-Blizzard syndrome (JBS)</i>	243800	AR
125 <i>Mental retardation, hypotrichosis, and syndactyly</i>	Lopes e Marques-de-Faria, 1996	AR?
126 <i>Oculodentoosseous dysplasia, recessive</i>	257850	AR
127 <i>Oculodentodigital dysplasia (ODDD)</i>	164200	AD
128 <i>Orofaciodigital syndrome I (OFDI)</i>	311200	XD
129 <i>Pili torti</i>	261900	AR
130 <i>Pilodental dysplasia with refractive errors</i>	262020	AR
131 <i>Progeroid short stature with pigmented nevi (Mulvihill-Smith syndrome)</i>	176690	AD
132 <i>Rodrigues blindness (Microphthalmia, microcornea, and sclerocornea with short stature and hair and dental abnormalities)</i>	268320	AR
133 <i>Trichodental dysplasia</i>	601453	AD
134 <i>Trichodysplasia and amelogenesis imperfecta</i>	Angelos e Jorgenson, 1993	AD?; XD?
135 <i>Uncombable hair, retinal pigmentary dystrophy, dental anomalies, and brachydactyly</i>	191482	AD
136 <i>Walbaum-Dehaene-Schlemmer syndrome</i>	Walbaum, Dehaene e Schlemmer, 1971	AR
137 <i>Zunich neuroectodermal syndrome</i>	280000	AR
<b>Subgrupo pelos-unhas. N = 26, Casos únicos = 2</b>		
138 <i>Alopecia congenita with keratosis palmoplantaris</i>	104100	AD
139 <i>Alopecia, nail dystrophy, palmoplantar hyperkeratosis, keratitis, hearing difficulty and micrognathia (Caso único)</i>	Nakamura e Ishikawa, 2007	?
140 <i>Anonychia-onychodystrophy with hypoplasia or absence of distal phalanges (Cooks syndrome)</i>	106995	AD
141 <i>Autosomal recessive neurodegenerative disorder with trichorrhexis invaginata and ED</i>	Gyure et al., 1992	AR?
142 <i>Cartilage-hair hypoplasia (CHH)</i>	250250	AR
143 <i>Curly hair-ankyloblepharon-nail dysplasia syndrome (CHANDS)</i>	214350	AR
144 <i>ED hidrotic, Christianson-Fourie type</i>	601375	AD
145 <i>ED with skin anomalies and mental retardation</i>	Halal, Setton e Wang, 1991	AR
146 <i>ED, 'pure' hair-nail type</i>	602032	AD?
147 <i>Hair-nail dysplasia</i>	Pinheiro e Freire-Maia, 1992	AD
148 <i>Hairy elbows (Hypertrichosis cubiti)</i>	139600	AD
149 <i>Hypotrichosis and nail dysplasia, hidrotic ED (Caso único)</i>	Harrison e Sinclair, 2004	?
150 <i>Ichthyosis and male hypogonadism</i>	308200	XR?
151 <i>Ichthyosis with alopecia, eclabion, ectropion, and mental retardation</i>	242510	AR
152 <i>Lymphedema-hypoparathyroidism syndrome</i>	247410	AR?; XR?

TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

Continua

Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo pelos-unhas. N = 26, Casos únicos = 2</b>		
153 <i>Monilethrix</i>	158000	AD
154 <i>Onychotrichodysplasia and neutropenia</i>	258360	AR
155 <i>Pili torti and onychodysplasia</i>	Beare, 1952	AD
156 <i>Pili torti, alopecia and onychodysplasia</i>	Calzavara-Pinton et al., 1991	AR
157 <i>Polypsis, skin pigmentation, alopecia, and fingernail changes</i>	175500	?
158 <i>Popliteal pterygium syndrome, lethal type</i>	263650	AR
159 <i>Syndrome of accelerated skeletal maturation, failure to thrive and peculiar face (Marshall syndrome II)</i>	Marshall et al., 1971	AR?; XR?
160 <i>T-cell immunodeficiency, congenital alopecia, and nail dystrophy</i>	601705	AR?
161 <i>Trichomegaly with mental retardation, dwarfism, and pigmentary degeneration of retina</i>	275400	AR
162 <i>Tricho-onychodysplasia-xeroderma</i>	Freire-Maia, Pinheiro e Fernandes-dos-Santos, 1985	AR
163 <i>Trichothiodystrophy, nonphotosensitive 1 (TTDN1)</i>	234050	AR
<b>Subgrupo pelos-glândulas sudoríparas. N = 5, Caso único = 1</b>		
164 <i>Dry skin and extranumerary areolae</i>	Freire-Maia e Chautard-Freire-Maia, 1990	AD
165 <i>Focal facial dermal dysplasia (Facial ED)</i>	136500; 227260	AD
166 <i>Short stature-kidney insufficiency-ophthalmological anomaly-growth retardation-ED (SKORED)</i>	Greenstein et al., 1985	AR?; XR?
167 <i>Tetra-amelia with ED and lacrimal duct abnormalities (Caso único)</i>	273390	AR
168 <i>Tricho-facio-hypohidrotic syndrome</i>	Antley et al., 1976	AR?; XR?
<b>Subgrupo dentes-unhas. N = 13</b>		
169 <i>Corneodermatoosseous syndrome (CDO syndrome)</i>	122440	AD
170 <i>Deafness, congenital, and onychodystrophy, autosomal dominant</i>	124480	AD
171 <i>Deafness, onychodystrophy, osteodystrophy, and mental retardation syndrome (DOOR syndrome)</i>	220500	AR?; AD?
172 <i>Dermatoosteolysis, Kirghizian type</i>	221810	AR
173 <i>Haim-Munk syndrome (HMS)</i>	245010	AR
174 <i>Hearing loss, sensorineural, with enamel hypoplasia and nail defects (Heimler syndrome)</i>	234580	AR
175 <i>Lacrimeoauriculodentodigital syndrome (LADD)</i>	149730	AD
176 <i>Odontomicronychial dysplasia</i>	601319	AR
177 <i>Odonto-ungueal dysplasia</i>	Pinheiro e Freire-Maia, 1996b	AD
178 <i>Otopalatodigital syndrome, type I (OPDI)</i>	311300	XD
179 <i>Pycnodysostosis</i>	265800	AR
180 <i>Weyers acrofacial dysostosis</i>	193530	AD
181 <i>Williams-Beuren syndrome (WBS)</i>	194050	AD



TABELA 3.1 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS DO GRUPO A (N = 186, CASOS ÚNICOS = 26)

		Conclusão
Displasia ectodérmica (ED)	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança
<b>Subgrupo dentes-glândulas sudoríparas. N = 3</b>		
182 <i>Hypohidrotic ED with mydriasis, iris atrophy, and mental retardation</i>	Beyer et al., 1979	AD?
183 <i>Kohlschutter-Tonz syndrome (Epilepsy, dementia, and amelogenesis imperfecta)</i>	226750	AR?; XR?
184 <i>Marshall syndrome I</i>	154780	AD
<b>Subgrupo unhas-glândulas sudoríparas. N = 2</b>		
185 <i>ED, absent dermatoglyphic pattern, changes in nails, and simian crease</i>	129200	AD
186 <i>Pachyonychia congenita, recessive</i>	260130	AR

NOTAS: AR, autossômica recessiva; AD, autossômica dominante; XD, ligada ao cromossomo X dominante; XR, ligada ao cromossomo X recessiva; Com. pess., comunicação pessoal.

OBS.: Os nomes das displasias ectodérmicas foram mantidos em inglês para seguir o nome adotado pelo OMIM.

### **Agrupamentos de DEs propostos recentemente**

Algumas DEs, anteriormente consideradas como afecções distintas, foram agrupadas como sendo a mesma entidade. Esses agrupamentos foram propostos em publicações recentes e/ou já estão disponíveis no OMIM.

A Síndrome de Zanier-Roubicek (ZANIER e ROUBICEK, 1976) é a forma autossômica dominante da DE hipodróica (ADHED, OMIM 129490), causada por mutações nos genes *EDAR* ou *EDARADD*.

A síndrome anteriormente conhecida como Ectrodactilia, DE e lábio/palato fendido 2 (EEC2, OMIM 602077) foi recentemente incorporada à EEC3 (OMIM 604292). Além disso, Irvine (2005) sugere similaridade clínica entre a EEC1 (OMIM 129900) e a Ectrodactilia e displasia ectodérmica sem lábio/palato fendido (OMIM 129810) porque esta última só foi observada em uma única família, e a ausência de lábio ou palato fendido pode ser explicada pela expressividade fenotípica variável.

A Displasia ectodérmica tipo Ilha Margarita e a Síndrome de Zlotogora-Ogur são consideradas a mesma condição: Síndrome de DE com lábio/palato fendido (CLPED1, OMIM 225060) e o antigo número desta última (OMIM 225000) agora pertence a outra DE (Síndrome de Rosselli-Gulienetti).

A afecção Tricotiodistrofia não-fotossensível (TTD, OMIM 234050) reuniu duas outras DEs: Síndrome dos pelos quebradiços, tipo Sabinas (OMIM 211390) e Síndrome da tricorrexe nodosa (OMIM 275550).

Winter (1993) afirmou que o paciente com Síndrome Digitorenocerebral (OMIM 222760) descrito por Eronen et al. (1985) excretava grandes quantidades de 2-oxoglutarato, que é uma característica da Síndrome DOOR (OMIM 220500), sugerindo, por isso, que ambas se referem à mesma entidade. Contudo, ambos os números são conservados no OMIM.

Ward e Moss (1994) sugeriram e Kaplan et al. (1995) concluíram que as síndromes de Setleis (OMIM 227260) e de Brauer (OMIM 136500) são formas da Displasia focal facial dermal, que são transmitidas em um padrão autossômico

dominante com expressividade variável (KAPLAN et al., 1995; MASUNO et al., 1995). Irvine (2005) também faz essa sugestão, com a qual concordamos.

Martino et al. (1992) sugeriram que a Síndrome dermatríquica (FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1984) e a Síndrome da ictiose folicular, atriúria e fotofobia (Síndrome IFAP, OMIM 308205) podem ser a expressão do mesmo gene ligado ao cromossomo X, devido à pleiotropia de um único gene ou ser uma síndrome de genes contíguos. Irvine (2005) concorda que essas síndromes possam ser a mesma entidade.

Devido à similaridade clínica, a Displasia trico-odonto-ônica hipodróica com catarata (COLE et al., 1945) pode ser a Síndrome de Rothmund-Thomson (OMIM 268400). O estudo de Cole et al. (1945) está referido nessa entrada do OMIM.

A Displasia ectodérmica com cisto adrenal (OMIM 129550), observada em um paciente e sua mãe (TUFFLI e LAXOVA, 1983), foi descrita como uma nova DE, clinicamente caracterizada por aplasia da cutis, hipoidrose, hipoplasia de mamilos, oncodisplasia, atraso na irrupção e anomalias dos dentes e cisto adrenal. Apesar da presença desse cisto, Edwards et al. (1994) sugeriram que esta afecção seria, de fato, um caso da Síndrome de Finlay-Marks (OMIM 181270). Consideramos que esta sugestão não pode ser descartada.

### **Agrupamentos de DEs sugeridos pela presente revisão**

A sobreposição das manifestações clínicas pode prejudicar a diferenciação de algumas DEs. Esse fato é agravado pela baixa incidência dessas afecções, algumas das quais observadas apenas em uma única família. Devido à ocorrência de um sinal ainda não mencionado em uma DE já descrita, alguns desses casos foram descritos como sendo novas entidades. Considerando que as DEs apresentam expressividade variável, é possível que algumas afecções pertençam a DEs já estabelecidas. As entidades seguintes ilustram essa possibilidade.

A Síndrome dos dentes-unhas de Fried (FRIED, 1977) é uma DE hidróica que parece se sobrepor à Síndrome de Witkop (OMIM 189500), que apresenta um padrão

autossômico dominante de herança. As similaridades clínicas são evidentes, mas como o primeiro distúrbio foi observado apenas em dois pacientes, filhos de primos em primeiro grau, pertencentes à mesma família, o padrão recessivo foi sugerido e levou Fried a considerá-lo uma nova síndrome. Outras duas entidades também são similares a estas síndromes: Displasia ectodérmica hidrótica autossômica recessiva (OMIM 602401), observada em três gerações de uma família libanesa com casamentos consanguíneos; e Taurodontia, dentes ausentes e cabelos esparsos (OMIM 272980), que não possui um padrão claro de herança e que manifesta taurodontia como um sinal exclusivo. Considerando o padrão autossômico recessivo, sugerimos que a Síndrome de Fried possa ser a mesma entidade que a DE hidrótica, enquanto que a Síndrome de Witkop representa outra entidade. Levando em conta que o padrão de herança da Taurodontia com dentes ausentes e cabelos esparsos não está definido e que a taurodontia pode representar um caso de expressividade variável, esta DE pode pertencer à síndrome de Witkop ou à síndrome de Fried.

Similaridades clínicas também são encontradas entre a Displasia trico-onicodental (TOD, KOSHIBA et al., 1978) e a Trico-odonto-onicodisplasia com pelos retorcidos (Carey, 1982; comunicação pessoal em FREIRE-MAIA e PINHEIRO, 1984) e os casos descritos se referem a pacientes observados em uma única família e a um único paciente, respectivamente.

As seguintes DEs apresentam sinais clínicos semelhantes: Trico-dermo displasia com alterações dentais (PINHEIRO et al., 1986), Síndrome trico-odonto-onico-dermal (PINHEIRO; PEREIRA; FREIRE-MAIA, 1981) e Displasia trico-odonto-oniquial (OMIM 275450), todas observadas em famílias isoladas. Não se pode ter certeza de que estas DEs sejam realmente distintas até que a sua etiologia seja descoberta. Além dessas, outra afecção, Displasia ectodérmica, tipo trico-odonto-oniquial (OMIM 129510), possui manifestação clínica semelhante à das DEs descritas acima, porém seu padrão de herança foi sugerido como sendo autossômico dominante com penetrância incompleta e expressividade variável (LYNGSTADAAS et al., 1996).

Três outras entidades merecem comparação: DE com dentes natais, tipo Turnpenny (OMIM 601345), Síndrome de Lelis (OMIM 608290) e Síndrome de Clouston (OMIM 129500). Pacientes com síndrome de Lelis apresentam hipoidrose e hiperqueratose palmoplantar, enquanto pacientes com DE tipo Turnpenny não manifestam estes sinais. A síndrome de Clouston apresenta hiperqueratose, como a síndrome de Lelis, e se parece com o tipo Turnpenny na sudorese normal, salientando a similaridade entre essas três síndromes. Considerando que o gene responsável pela síndrome de Clouston já foi identificado, análise de DNA nos pacientes portadores das outras duas síndromes poderia elucidar se elas representam a mesma entidade.

As duas formas de Hipomelanose de Ito (ligada ao cromossomo X e autossômica) já foram consideradas no OMIM como sendo Incontinentia pigmenti (IP1, OMIM 300337). Admitimos que a forma ligada ao sexo é realmente IP1, mas a forma autossômica dominante de Hipomelanose de Ito é a própria Síndrome de Naegeli-Franceschetti-Jadassohn (OMIM 161000).

### **DEs do grupo A não incluídas em revisões anteriores**

O trabalho de revisão das DEs realizado por Pinheiro e Freire-Maia em 1994 relaciona 154 afecções do grupo A (PINHEIRO e FREIRE-MAIA, 1994) . Uma revisão realizada posteriormente por Lisboa-Costa (2001) elevou esse número para 192 diferentes DEs (LISBOA-COSTA, 2001; FREIRE-MAIA; LISBOA-COSTA; PAGNAN, 2001). Por outro lado, Irvine (2005) revisou 141 DEs, sendo que seis delas pertenceriam ao grupo B. Analisando essas três revisões e comparando-as com relatos de outras afecções na literatura, cinco novas afecções foram incluídas no grupo A, e suas principais características clínicas estão relatadas na Tabela 3.2.

Neste ponto, este capítulo difere da versão submetida à publicação no *Am. J. Hum. Genet.* Na tabela 3.2 do manuscrito em inglês estão relacionadas 28 novas afecções, pois inclui condições presentes na revisão de Lisboa-Costa (2001). Por sua vez, o presente texto relaciona apenas as DEs descritas após 2001.

TABELA 3.2 - DISPLASIAS ECTODÉRMICAS NÃO INCLUÍDAS EM REVISÕES ANTERIORES

Displasia ectodérmica	Referência (OMIM, quando disponível)	Herança	Cabelos e pelos	Dentes	Unhas	Glândulas sudoríparas	Outros sinais
<b>Subgrupo pelos-dentes-unhas-glândulas sudoríparas</b>							
<i>Curly hair-acral keratoderma-caries syndrome</i>	van Steensel et al. (2001)	AD	Cabelos encaracolados, secos e quebradiços; perda precoce dos cabelos; sobrancelhas e cílios esparsos	Hipoplasia de esmalte, com perda de dentes devido a cáries	Unhas dos dedos e artelhos amareladas e grossas	Hipoidrose	Pele: ceratoderma com padrão reticulado na ponta dos dedos e artelhos; Face: achatamento da região malar e bossa frontal
<i>ED with alopecia, onychodysplasia, hypohidrosis, keratoderma, abnormal teeth and deafness</i> (Caso único)	Akhyani e Kiavash (2007)	AR?	Cabelos esparsos e finos; totalmente calvo aos 4 anos de idade; sobrancelhas, cílios e pelos pubianos e axilares esparsos	Malformados	Unhas com hiperkeratose subungueal; onicólise com estrias longitudinais acentuadas; unhas dos artelhos com superfície irregular	Hipoidrose	Pele: seca e áspera; ceratoderma palmoplantar; Audição: surdez sensorineural
<b>Subgrupo pelos-unhas</b>							
<i>Hypotrichosis and nail dysplasia, hidrotic ED</i> (Caso único)	Harrison e Sinclair (2004)	?	Cabelos esparsos e curtos; redução do número de folículos pilosos; sobrancelhas ausentes; cílios curtos; trichorrhexis nodosa; ausência de pelos retorcidos	Normal	Unhas distróficas em todos os dígitos; onicólise distal; perda da cutícula; leito ungueal encurtado	Normal	
<i>Nail dystrophy, palmoplantar hyperkeratosis, keratitis, hearing difficulty and micrognathia</i> (Caso único)	Nakamura e Ishikawa (2007)	?	Regiões alopécicas na cabeça; sobrancelhas e cílios escassos	Normal	Unhas dos dedos e artelhos com fissuras longitudinais e onicólise	Normal	Pele: hiperkeratose palmoplantar; Face: micrognatia; Audição: dificuldade auditiva condutiva; Olhos: ceratite
<i>T-cell immunodeficiency, congenital alopecia, and nail dystrophy</i>	601705	AR?	Alopecia congênita	Normal	Todas as unhas com sulcos e corroidas	Normal	Outros achados: imunodeficiência grave de células T

NOTAS: AD, autossômica dominante; AR, autossômica recessiva.

OBS.: Os nomes das displasias ectodérmicas foram mantidos em inglês para haver correspondência com a Tabela 3.1.

## ASPECTOS MOLECULARES DAS DEs

As recentes descobertas de mutações responsáveis pela etiologia de várias DEs estão proporcionando uma melhor compreensão dessas afecções. A tabela 3.3 faz uma atualização de revisões anteriores (PRIOLO et al., 2000; PRIOLO e LAGANÀ, 2001; LAMARTINE, 2003; ITIN e FISTAROL, 2004), adicionando cerca de 50 genes em relação àqueles listados por Lamartine (2003), cuja classificação funcional foi seguida. Em alguns casos, um gene é responsável pela manifestação de uma DE específica, por exemplo, o gene *PKP1* (1q32) está relacionado com a Síndrome de DE e fragilidade da pele (OMIM 604536), enquanto que o gene *PORCN* (Xp11.23) é responsável pela Hipoplasia dermal focal (OMIM 305600). Por outro lado, mutações em um gene podem causar DEs clinicamente distintas, e mutações em diferentes genes podem determinar a mesma DE, como será discutido a seguir. Duas condições (Tabela 3.3) para as quais apenas os subgrupos foram caracterizados clinicamente (RAFIQ et al., 2005; TARIQ et al., 2008) não estão presentes na tabela 3.1 porque podem representar DEs já descritas.

TABELA 3.3 – GENES (N = 64) E REGIÕES CROMOSSÔMICAS (N = 3) RESPONSÁVEIS POR DISPLASIAS ECTODÉRMICAS

Continua

Cromossomo	Gene	Função gênica <sup>a</sup>	Proteína ou produto gênico	Displasia Ectodérmica (DE)	OMIM/Referência
Xp11.23	<i>PORCN</i>	O	Cinco isoformas (PORCA-PORCE)	<i>Focal dermal hypoplasia</i>	305600
Xp22.3-p22.2	<i>OFD1</i>	?	Proteína OFD1	<i>Orofaciodigital syndrome 1</i>	311200
Xq12-q13.1	<i>ED1</i>	S	Ectodisplasina	<i>XLHED (CST)</i>	305100
Xq28	<i>NEMO</i>	S	IKK- $\gamma$	<i>Incontinentia pigmenti 2;</i> <i>OLEDAID syndrome</i>	308300 300301
				<i>Hypohidrotic with immune deficiency</i>	300291
Xq28	<i>DKC1</i>	O	Disquerina	<i>Dyskeratosis congenita, X-linked</i>	305000
Xq28	<i>FLNA</i>	O	Filamina A	<i>Otopalatodigital syndrome (OPD1)</i>	311300
1p21	<i>COL11A1</i>	O	Colágeno XI alfa 1	<i>Marshall syndrome 1</i>	154780
1q21	<i>CTSK</i>	O	Catepsina K	<i>Pycnodysostosis</i>	265800
1q32	<i>PKP1</i>	A	Placofilina 1	<i>ED/skin fragility syndrome.</i>	604536
1q42.2-q43	<i>EDARADD</i>	S	Adaptador para o receptor da ectodisplasina A	<i>ADHED e ARHED</i>	129490, 224900
2q11-q13	<i>EDAR</i>	S	Receptor da ectodisplasina	<i>ADHED e ARHED</i>	129490, 224900
2q21	<i>ERCC3</i>	O	DNA helicase dependente de ATP que atua no reparo por excisão	<i>Trichothiodystrophy</i>	601675
2q35	<i>WNT10A</i>	S	Glicoproteína sinalizadora da via Wnt (membro 10A da família do sítio de integração <i>Wingless-type MMTV</i> )	<i>Odontoonychodermal dysplasia (OODD)</i>	257980
3q21-q28	<i>TERC</i>	O	Componente de RNA telomerase	<i>Dyskeratosis congenita, AD</i>	127550
3q27	<i>TP63</i>	R	p63 (semelhante a p73)	<i>ADULT syndrome</i> <i>Ectrodactyly, ED, cleft lip/palate syndrome 3 (EEC3)</i> <i>Limb-mammary syndrome</i> <i>Ankyloblepharon-ED</i> <i>SHFM4 syndrome<sup>b</sup></i> <i>Rapp-Hodgkin syndrome (RHS)</i>	103285 604292 603543 106260 605289 129400
4p16	<i>EVC e EVC2</i>	R	EVC	<i>Ellis-van Creveld</i> <i>Weyers acrofacial dysostosis</i>	225500 193530
4p16.1	<i>MSX1</i>	D	Msx1	<i>Witkop syndrome</i>	189500
4p16.3	<i>FGFR3</i>	S	Receptor do fator de crescimento de fibroblastos-3	<i>Lacrimoauriculodentodigital syndrome</i>	149730
5p13-p12	<i>FGF10</i>	S	Fator de crescimento de fibroblastos-10	<i>Lacrimoauriculodentodigital syndrome</i>	149730
5p15.33	<i>TERT</i>	O	Transcriptase reversa da telomerase	<i>Dyskeratosis congenita, AD</i>	127550



TABELA 3.3 – GENES (N = 64) E REGIÕES CROMOSSÔMICAS (N = 3) RESPONSÁVEIS POR DISPLASIAS ECTODÉRMICAS

Continua

Cromossomo	Gene	Função gênica <sup>a</sup>	Proteína ou produto gênico	Displasia Ectodérmica (DE)	OMIM/Referência
6p25.3	<i>TGF2H5</i>	O	Fator geral de transcrição IIH, polipeptídeo 5	<i>Trichothiodystrophy</i>	601675
6q21-q23.2	<i>GJA1</i>	S	Conexina 43	<i>Oculodentodigital dysplasia (ODDD)</i>	164200
7p14	<i>TTDN1 (C7ORF11)</i>	O	Proteína 1 de TTD não foto-sensível	<i>Trichothiodystrophy, nonphotosensitive 1 (TTDN1)</i>	234050
7q11.2-q21.3	<i>EEC1</i>			<i>Ectrodactyly, ED, cleft lip/palate syndrome 1 (EEC1)</i>	129900
7q11.23	<i>ELN</i>	O	Elastina	<i>Williams-Beuren syndrome (WBS)</i>	194050
	<i>RFC2</i>	?	Fator de replicação C2	<i>Williams-Beuren syndrome</i>	194050
	<i>CYLN2</i>	?	Ligante citoplasmático 2	<i>Williams-Beuren syndrome</i>	194050
	<i>LIMK1</i>	R	Quinase 1 LIM	<i>Williams-Beuren syndrome</i>	194050
	<i>GTF2IRD1</i>	R	Fator de transcrição GTF21	<i>Williams-Beuren syndrome</i>	194050
	<i>GTF2I</i>	R	Fator geral de transcrição II-I (proteína associada a BTK)	<i>Williams-Beuren syndrome</i>	194050
7q32	<i>MEK2</i>	O	Quinase 2 com função de transdução de sinais	<i>Cardiofaciocutaneous syndrome (CFC)</i>	115150
7q32-q34				<i>Coffin-Siris syndrome</i>	135900
7q34	<i>BRAF</i>	O	p21s	<i>Cardiofaciocutaneous syndrome</i>	115150
7q36	<i>SHH</i>	D	<i>Sonic Hedgehog</i>	<i>SMMCI syndrome<sup>b</sup></i>	147250
8q24.12	<i>TRPS1</i>	R	Fator de transcrição <i>Zinc finger</i>	<i>Trichorhinophalangeal syndrome</i>	190350
8q24.3	<i>RECQL4</i>	O	DNA helicase <i>RecQ-like 4</i>	<i>Rothmund-Thomson syndrome</i>	268400
9p21p12	<i>RMRP</i>	O	Endorribonuclease de processamento de RNA mitocondrial	<i>Cartilage-hair hypoplasia</i>	250250
10p15	<i>GATA3</i>	R	GATA3	<i>Hypoparathyroidism, sensorineural deafness, and renal dysplasia<sup>b</sup></i>	146255
10q24.32-q25.1				DE do subgrupo 1-3 <sup>c</sup>	Rafiq et al. (2005)
10q26	<i>FGFR2</i>	S	Receptor 2 do fator de crescimento de fibroblastos	<i>Lacrimeoauriculodentodigital syndrome</i>	149730
11p15.5	<i>HRAS</i>	O	p21s	<i>Costello syndrome</i>	218040
11q14.1-q14.3	<i>CTSC</i>	O	Catepsina C	<i>Papillon-Lefevre syndrome</i>	245000
				<i>Haim-Munk syndrome</i>	245010
11q23-q24	<i>PVRL1</i>	A	Nectina 1	<i>Cleft lip/palate-ED syndrome (CLPED1)</i>	225060
				<i>Rosselli-Gulienetti syndrome</i>	225000
				<i>Odontotrichomelic syndrome<sup>d</sup></i>	273400
12p12.1	<i>KRAS2</i>	O	p21s	<i>Costello syndrome</i>	218040
				<i>Cardiofaciocutaneous syndrome</i>	115150

TABELA 3.3 – GENES (N = 64) E REGIÕES CROMOSSÔMICAS (N = 3) RESPONSÁVEIS POR DISPLASIAS ECTODÉRMICAS

Conclusão

Cromossomo	Gene	Função gênica <sup>a</sup>	Proteína ou produto gênico	Displasia Ectodérmica (DE)	OMIM/Referência
12q13	<i>KRTHB1</i> , <i>KRTHB3</i> e <i>KRTHB6</i>	O	Queratinas 81, 83 e 86	<i>Monilethrix</i>	158000
12q13	<i>KRT6A</i> e <i>KRT6B</i>	O	Queratinas 6A e 6B	<i>Pachyonychia congenita 1 e 2</i>	167200, 167210
12q13	<i>KRTHB5</i>	O	Queratina 85	<i>Ectodermal dysplasia, 'pure' hair-nail type</i>	602032
12q24.1	<i>TBX3</i>	?	Tbx 3	<i>Ulnar-mammary syndrome</i>	181450
13q11-q12	<i>GJB2</i>	S	Conexina 26	<i>Palmoplantar keratoderma, with deafness<sup>b</sup></i>	148350
				<i>Keratitis-ichthyosis-deafness syndrome, AD (KID, AD)</i>	148210
				<i>Ichthyosis, hystrix-like, with deafness (HID syndrome)<sup>b</sup></i>	602540
13q12	<i>GJB6</i>	S	Conexina 30	<i>Clouston syndrome</i>	129500
14q12	<i>TINF2</i>	O	Fator nuclear 2 de interação com TRF1	<i>Dyskeratosis congenita, AD</i>	127550
15q14-q15	<i>NOLA3</i>	O	Proteína nucleolar A3	<i>Dyskeratosis congenita, AR</i>	224230
15q15-q21.1	<i>UBR1</i>	O	Ubiquitina ligase E3-alfa	<i>Johanson-Blizzard syndrome</i>	243800
15q21	<i>MEK1</i>	O	Quinase 1 com função de transdução de sinais	<i>Cardiofaciocutaneous syndrome</i>	115150
16q22.1	<i>CDH3</i>	A	Caderina-3	<i>HJMD syndrome<sup>b</sup></i>	601553
				<i>ED, ectrodactyly, and macular dystrophy (EEM)</i>	225280
17q11-q12	<i>WHN</i>	R	Fator de transcrição <i>winged-helix</i>	<i>T-cell immunodeficiency, congenital alopecia, and nail dystrophy</i>	601705
17q12-q21	<i>KRT14</i>	O	Queratina 14	<i>Naegeli-Franceschetti-Jadassohn syndrome</i>	161000
17q12-q21	<i>KRT16</i> e <i>KRT17</i>	O	Queratinas 16 e 17	<i>Pachyonychia congenita 1 e 2</i>	167200, 167210
17q21.3-q22	<i>DLX3</i>	D	Proteína homeobox DLX-3	<i>Trichodontoosseous syndrome</i>	190320
18q22.1-22.3				DE do subgrupo 1-2-3 <sup>c</sup>	Tariq et al. (2008)
19p13.2	<i>INSR</i>	S	Receptor de insulina	<i>Pineal hyperplasia, insulin-resistant diabetes mellitus, and somatic abnormalities</i>	262190
19q13.2-q13.3	<i>ERCC2</i>	O	Proteína 2 de reparo de DNA por excisão (ERCC-2)	<i>Trichothiodystrophy</i>	601675

NOTAS: <sup>a</sup> Função gênica: S, sinalização e comunicação célula-célula; R, regulação da transcrição; A, adesão; D, desenvolvimento; O, outra; ?, não totalmente esclarecida. <sup>b</sup> DE do grupo B. <sup>c</sup> Displasia ectodérmica caracterizada apenas como pertencente a um subgrupo sem maior detalhamento. <sup>d</sup> Possivelmente determinada pelo gene *PVRL1*.

OBS.: Os nomes das displasias ectodérmicas foram mantidos em inglês para haver correspondência com a Tabela 3.1.

### Um gene – diferentes DEs

IKK- $\gamma$ , codificado pelo gene *NEMO* (Xq28), é um importante regulador da via do NF- $\kappa$ B. Mutações no gene *NEMO* causam a DE hipodrórica com imunodeficiência (OMIM 300291), Incontinentia pigmenti 2 (OMIM 308300) e DE com imunodeficiência, osteopetrose e linfedema (Síndrome OLEDAID, OMIM 300301).

O gene *TP63*, também conhecido como *TP73L* (3q27), codifica várias isoformas com diferentes propriedades em transativar genes repórter de *P53*. Mutações no *TP63* são responsáveis pelo desenvolvimento de, no mínimo, seis diferentes DEs: Síndrome ADULT (OMIM 103285), EEC3 (OMIM 604292), Síndrome dos membros-glândulas mamárias (LMS, OMIM 603543), Síndrome de Hay-Wells (AEC, OMIM 106260), Síndrome de Rapp-Hodgkin (OMIM 129400) e SHFM4 (OMIM 605289). Essa última DE pertence ao grupo B. Nessas síndromes, o padrão das mutações no *TP63* indica uma correlação genótipo-fenótipo (BRUNNER; HAMEL.; VAN BOKHOVEN, 2002).

Nectina 1 é uma molécula de adesão que faz parte do sistema NAP de adesão celular e mutações em seu gene *PVRL1* (11q23-q24) podem levar a três diferentes DEs: Síndrome de DE com lábio/palato fendido (CLPED1, OMIM 225060), caracterizada por hipotricose, anomalias dentárias e faciais, unhas displásicas, fendas lábio-palatinas e hiperkeratose palmoplantar; Síndrome de Rosselli-Gulienetti (OMIM 225000), que se caracteriza por anidrose, hipotricose, microdontia, displasia de unhas, fendas lábio-palatinas, deformidades dos dedos e artelhos e malformações do sistema geniturinário. A Síndrome odontotricomélica (OMIM 273400) também teve o *PVRL1* sugerido como sendo seu gene candidato.

Outros genes também são responsáveis por mais de um tipo clínico de DE (*EVC*, *EVC2*, *CTSC*, *KRAS2*, *GJB2* e *CDH3*), como mostrado na tabela 3.3.

### Diferentes genes – Uma DE do ponto de vista clínico

A Síndrome cárdio-fácio-cutânea (CFC, OMIM 115150) é causada por mutações de ganho de função em quatro diferentes genes *BRAF* (7q34), *KRAS2* (12p12.1), *MEK1* (15q21) e *MEK2* (7q32), todos pertencentes a uma mesma via que regula a apoptose e a diferenciação e proliferação celular (ROBERTS et al., 2006). A Síndrome de Costello também pode ser causada por variações no gene *KRAS2* ou no gene *HRAS* (11p15.5).

A Síndrome de Ellis-van Creveld (OMIM 225500) pode ser causada por mutações nos genes *EVC* e *EVC2*, que codificam um mediador intracelular da via *hedgehog* (porco-espinho) de transdução de sinal. Essa via, cujo efeito é observado em condrócitos, é indispensável na sinalização para o crescimento endocondral (RUIZ-PEREZ et al., 2007). Ruiz-Perez et al. (2003) já haviam estabelecido que ambos os genes estão localizados no cromossomo 4 (4p16) em orientações contrárias, com sítios de início de transcrição separados por cerca de 2600 pb. Shimada et al. (1989) e Platzer et al. (1997) deram outros exemplos de correção por um único promotor com atividade bidirecional e Adachi e Lieber (2002) concluíram que essa configuração “cabeça-a-cabeça” pode ser uma característica comum no genoma humano.

Wang et al. (1999) analisaram casos de Síndrome de Williams-Beuren (WBS, OMIM 194050), anteriormente publicados, e observaram que cerca de 33% dos pacientes possuíam unhas dis/hipoplásicas e que 58% apresentavam anomalias dentárias, mostrando que essa síndrome se manifesta como uma DE em uma fração de pacientes. Aproximadamente 90% dos casos de WBS resultam de uma deleção de 2Mb no cromossomo 7 (7q11.23), que abriga os genes *ELN*, *LIMK1*, *RFC2*, *CYLN2*, *GTF2IRD1* e *GTF2I*. Haploinsuficiências desses genes são responsáveis pela WBS.

A Disceratose congênita pode se apresentar com três formas de herança: Ligada ao cromossomo X (Xq28, OMIM 305000), AR (15q14-q15, OMIM 224230) e AD (OMIM 177550). Essa última forma de disceratose pode ser determinada por alterações em três genes: *TERC* (3q21-q28), que codifica um componente da RNA

polimerase; *TERT* (5p15.33), responsável por uma transcriptase reversa da telomerase (TRT); e *TINF* (14q12), que codifica um fator de interação nuclear.

A Moniletrix (OMIM 158000), causada por mutações nos genes de queratina capilar *KRTHB1*, *KRTHB3* e *KRTHB6* (todos localizados em 12q13); as duas formas de Paquioníquia congênita, tipo 1 (OMIM 167200) e tipo 2 (OMIM 167210); e a Síndrome lácrimo-aurículo-dento-digital (LADD, OMIM 149730) são outros exemplos de DEs causadas por mutações em diferentes genes.

Existe uma situação particular em que três DEs hipoidróticas (HED, na sigla em inglês) possuem manifestação clínica idêntica, porém com diferentes padrões de herança, fazendo com que elas sejam classificadas como entidades separadas: XLHED (OMIM 305100), de herança ligada ao cromossomo X; e as formas Autossômica dominante (ADHED, OMIM 129490), e Autossômica recessiva (ARHED, OMIM 224900). A similaridade clínica entre essas formas de DEs está relacionada com o envolvimento da ectodisplasina, EDAR (um membro da família de receptores de TNF) e EDARADD na mesma via de sinalização embrionária. A ectodisplasina se liga ao seu receptor EDAR que recruta a proteína adaptadora EDARADD para fazer a transdução de sinal e ativar a via do NF-κB do complexo IKK (HEADON et al., 2001). A XLHED é determinada por mutações no gene *ED1* (*EDA*, Xq12-q13.1) que codifica a ectodisplasina. Mutações no gene *EDAR* (2q11-q13), que codifica o receptor EDAR, causam ambas as formas autossômicas, ARHED e ADHED (MONREAL et al., 1999). O gene *EDARADD* (1q42.2-q43), que determina o adaptador para o receptor EDAR pode, também, levar às DEs hipoidróticas com padrão AR (HEADON et al., 2001) ou AD (BAL et al., 2007).

## CONCLUSÕES

É muito importante que se tenha uma definição clara e bem delimitada de o que é uma DE, pois a definição serve como ponto de partida para a classificação desses

distúrbios. A definição de Freire-Maia (1971, 1977) atende a esses requisitos e permite uma classificação simples e muito útil para o diagnóstico clínico.

Pesquisas ao nível molecular estão levando à descoberta de alterações genéticas responsáveis por DEs, o que permitirá o diagnóstico etiológico. Isto poderá reduzir o número de entidades classificadas como DEs, pois distúrbios descritos como sendo clinicamente diferentes podem representar expressão variável de uma mesma DE.

A combinação de ambos os procedimentos – clínico e molecular – traz vantagens para o aprofundamento do conhecimento sobre as DEs. Em primeiro lugar, por permitir um diagnóstico rápido e mais preciso sempre que exames de DNA estiverem disponíveis. Em segundo lugar, a compreensão dos mecanismos biológicos que causam as DEs é necessária para o desenvolvimento de métodos eficazes de prevenção e tratamento.

Qualquer definição, bem como a classificação dela resultante, possuem um grau de artificialidade. Somando-se o fato de que novas descobertas são constantemente feitas, torna-se evidente que ambas, definição e classificação, são dinâmicas e sua reavaliação é requerida periodicamente. Desta forma, o número de DEs apresentado nesta revisão pode ser alterado em breve; novos genes, cujas mutações condicionem estas afecções, serão continuamente identificados; e métodos promissores de diagnóstico, prevenção e tratamento poderão ser propostos. A comparação fenotípica continuará fornecendo evidências de interações moleculares, levando à descoberta de novas vias metabólicas. Pode-se prever que o aumento na colaboração entre pesquisadores que atuam em aspectos clínicos e da biologia fundamental das DEs, usando procedimentos investigatórios apropriados a cada campo, poderá propiciar um panorama mais claro deste grupo nosológico no futuro próximo.

## 4 ATUALIZAÇÃO DE BANCO DE DADOS INFORMATIZADO

### INTRODUÇÃO

A crescente disseminação da Internet permitiu o surgimento de uma grande quantidade de novas tecnologias e ambientes virtuais, o que levou à necessidade de publicação e acesso a dados através de *Web sites* que obedecam a alguns critérios, tais como usabilidade, portabilidade e acessibilidade.

Em 2001, Lisboa-Costa desenvolveu, em seu trabalho de mestrado, um site de Displasias Ectodérmicas (DEs). Esse site disponibilizava, entre outras coisas, o acesso a informações sobre cerca de 192 DEs; permitia chegar-se a uma sugestão de diagnóstico baseado em características clínicas; e fornecia uma ferramenta de busca por palavras-chave (LISBOA-COSTA, 2001). Com a mudança dos servidores de *Web Pages* da Universidade Federal do Paraná (UFPR), alguns sites que utilizavam tecnologias de banco de dados e ASP (*Active Server Page*) não puderam mais ser hospedados nesse servidor. Isto aconteceu com o site das DEs quando a UFPR substituiu a plataforma Windows pela plataforma Linux.

Os objetivos deste tema da tese foram remodelar e reconstruir o site de DEs do grupo A, adaptando-o às exigências do novo servidor; criar um domínio para esse novo site e hospedá-lo no servidor de *Web Pages* da UFPR, tornando o seu conteúdo revisado, novamente disponível na Internet.

### MÉTODOS

A metodologia empregada na reformulação do site de DEs foi gentilmente desenvolvida pela senhora Dirce Oliveira Freire-Maia, funcionária da UFPR, conforme descrito a seguir.

### **Estudo do site anteriormente desenvolvido**

A primeira etapa do trabalho de remodelação foi compreender o funcionamento e a lógica do site anterior, que era composto por 11 bancos de dados (um para cada subgrupo de DEs do grupo A). O servidor da UFPR permite, atualmente, a implantação de um único banco por domínio. Por isso, a análise do antigo site de DEs foi possível através de consultas à dissertação de Lisboa-Costa (LISBOA-COSTA, 2001) e aos professores Nina Amália Brancia Pagnan, orientadora daquela dissertação, e Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza, que recuperou as informações contidas nos bancos de dados e as transformou em planilhas *Excel* (*Microsoft Corporation*). Ao se analisar o conteúdo desses bancos de dados, constatou-se que a maior parte das informações era estática, pois correspondia a dados que não se alteram com o tempo. Por esse motivo, essas informações não precisavam ser incluídas em um banco de dados, o que permitiu o uso de páginas HTML (*HyperText Markup Language*).

Verificou-se que o funcionamento do filtro clínico era baseado em sistema especialista. Esse modelo, desenvolvido a partir da década de 1970, utiliza uma lógica simples (de verdadeiro/falso, por exemplo) para analisar os dados e propor uma solução (MENDES, 1997). Esse método foi empregado na elaboração das questões clínicas que, conforme a resposta dicotômica (sim ou não) remetia, sucessivamente, a outras questões específicas, até que o *software* sugerisse uma resposta acerca da DE pesquisada.

O filtro por palavras-chave, por sua vez, era baseado na busca, nos bancos de dados, da palavra (ou palavras) digitada no campo Consultar.

### **Reconstrução do site**

As informações contidas nos onze bancos de dados foram removidas para páginas HTML individuais, construindo-se uma página para cada afecção específica. Dessa forma, todos aqueles bancos de dados foram eliminados, o que permitiu abrigar o site no servidor da UFPR.



O filtro clínico continua usando a mesma lógica de sistema especialista adotada anteriormente, remetendo, ao final da consulta, a uma ou algumas páginas HTML de displasias ectodérmicas.

### **Remodelação do site**

Primeiramente, buscou-se a criação de um domínio específico no servidor UFPR para abrigar o novo site. Em seguida, a incorporação de vários recursos ausentes na versão anterior foi sugerida, como será apresentado no item Resultados. Além disso, uma nova editoração gráfica e uma nova forma de apresentação dos tópicos foram propostas com a finalidade de modernizar o aspecto visual e facilitar a navegação pelo site.

## **RESULTADOS**

Foi criado um domínio específico no servidor da UFPR para abrigar o site Displasias ectodérmicas cujo endereço eletrônico é [www.displasias.ufpr.br](http://www.displasias.ufpr.br).

O novo site oferece várias inovações em relação ao site anterior, como descrito a seguir.

*Link* para o site do OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*): instalado dentro das fichas individuais, esse dispositivo permite consulta instantânea às informações sobre a DE específica naquele site, desde que ela possua um número OMIM.

*Cadastre-se*: o cadastro permitirá o acesso a informações restritas, tais como endereços eletrônicos de indivíduos interessados em trocar informações sobre DEs, divulgação de eventos, aconselhamento genético, envio de material informativo e de resultados de exames de DNA quanto ao gene *ED1*, responsável pela Displasia Ectodérmica Hipodróica Ligada ao Cromossomo X;

*Encontre famílias:* é uma rede de suporte familiar, que se propõe a colocar famílias com portadores de DEs em contato, para troca de experiências e informações;

*Contato:* formulário cujo preenchimento possibilita o envio de perguntas ou comentários. As respostas serão dadas por membros do Centro de Estudos de Displasias Ectodérmicas (CEDE);

*Perguntas frequentes* (FAQ, na sigla inglesa): as perguntas enviadas, através do site ou por outro meio de comunicação, formarão um banco de dados. As respostas serão enviadas, em caráter particular, através de mensagem eletrônica. Perguntas recorrentes ou com questões relevantes, serão publicadas neste item;

*Depoimentos:* pacientes, ou seus familiares, bem como profissionais de saúde que atendam essas pessoas poderão dar um depoimento relatando suas experiências ou outros comentários;

*Controle de tráfego:* a instalação de um contador nas páginas principais permitirá quantificar o uso do site.

Além desses recursos novos, todo o conteúdo existente no site anterior foi adaptado ao formato exigido pelo novo servidor. Dessa maneira, os itens *Introdução* (que descreve sucintamente as DEs), *Classificação*, *Filtro clínico* (que permite a busca de uma DE com base em seus sinais clínicos) e *Banco de imagens* continuam presentes no novo site. Os itens *Links úteis*, *Displasias descritas pelo CEDE* (que relaciona as 23 afecções descritas pela equipe do Professor Newton Freire-Maia) e *Créditos* também foram mantidos. Um novo trabalho de editoração gráfica também está sendo desenvolvido. A seguir serão apresentados, como exemplos, alguns recursos disponíveis no site (Figuras 4.1 a 4.5). Como o trabalho gráfico ainda está sendo executado, modificações no *layout* das páginas serão observadas brevemente.

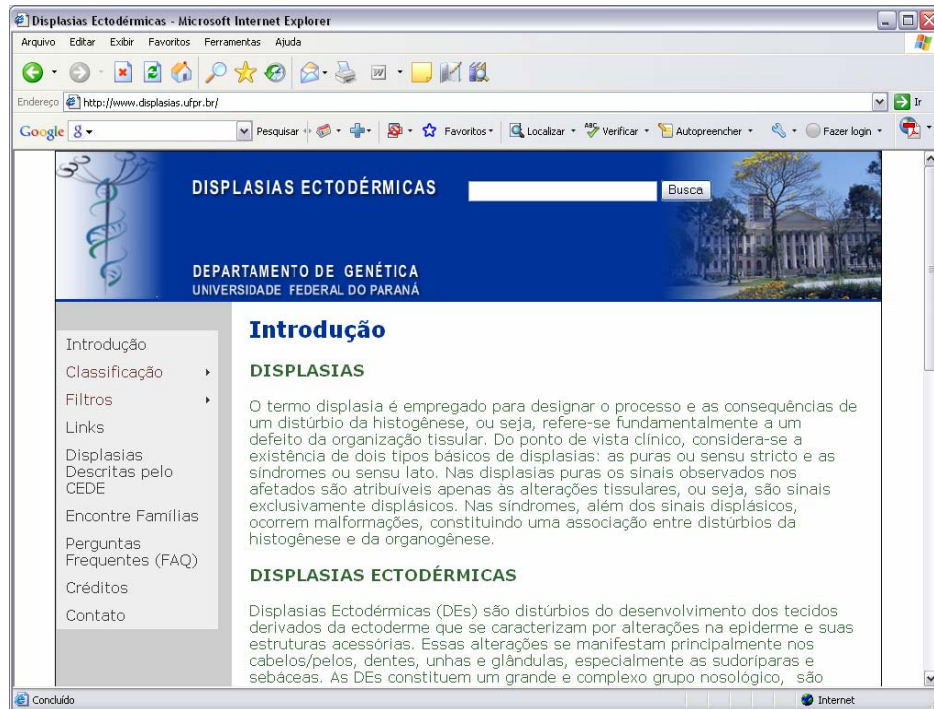


FIGURA 4.1 – ASPECTO DA PÁGINA INICIAL

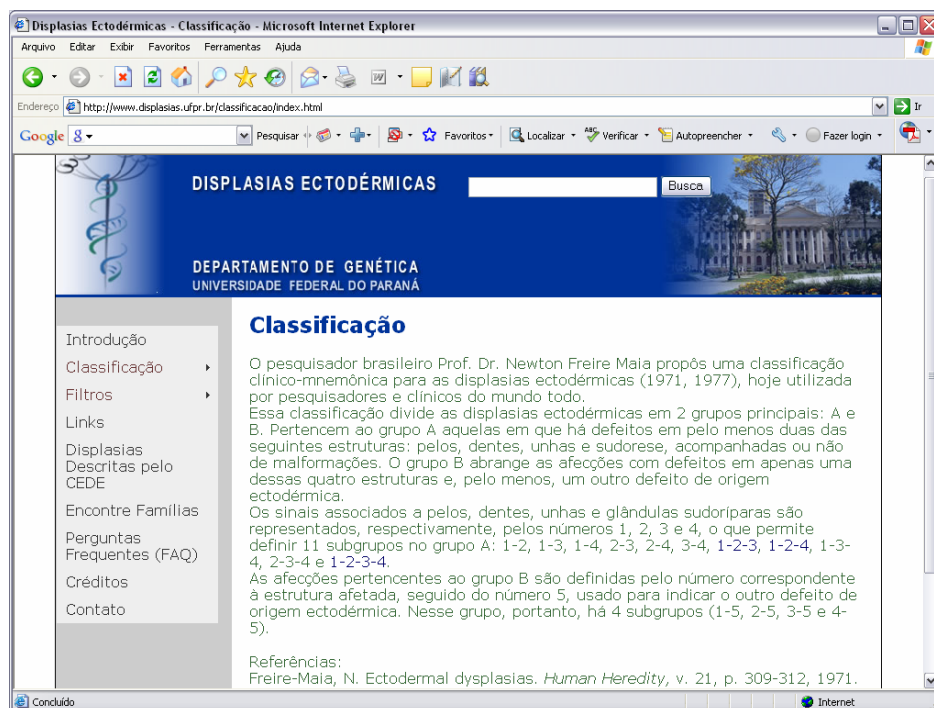


FIGURA 4.2 – CLASSIFICAÇÃO DAS DEs: TEXTO DESCRITIVO



FIGURA 4.3 – FICHÁRIO GERAL

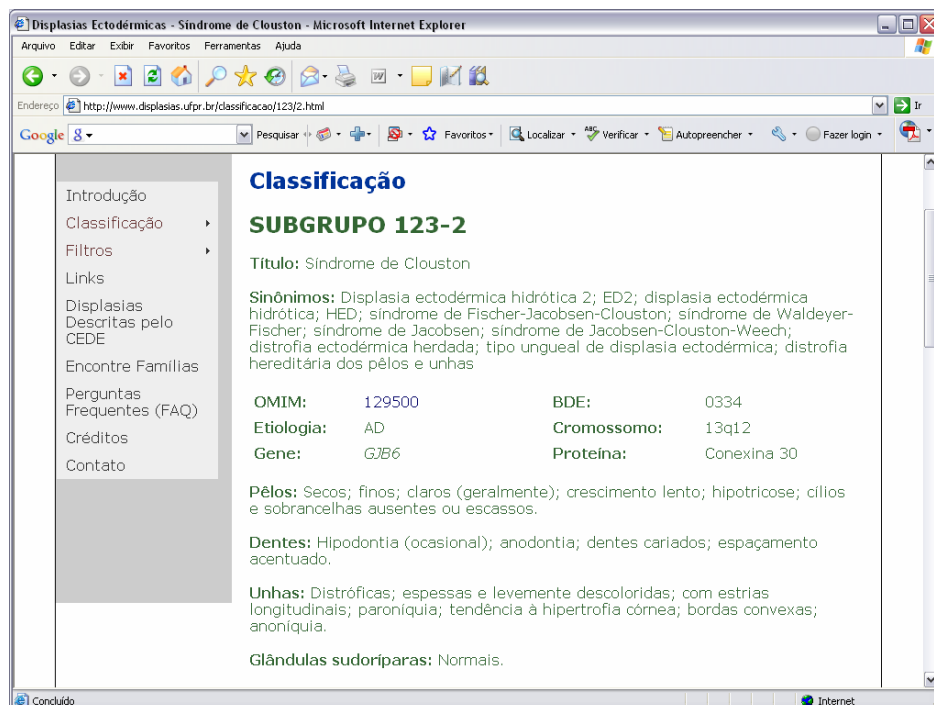


FIGURA 4.4 – FICHA INDIVIDUAL (SÍNDROME DE CLOUSTON)

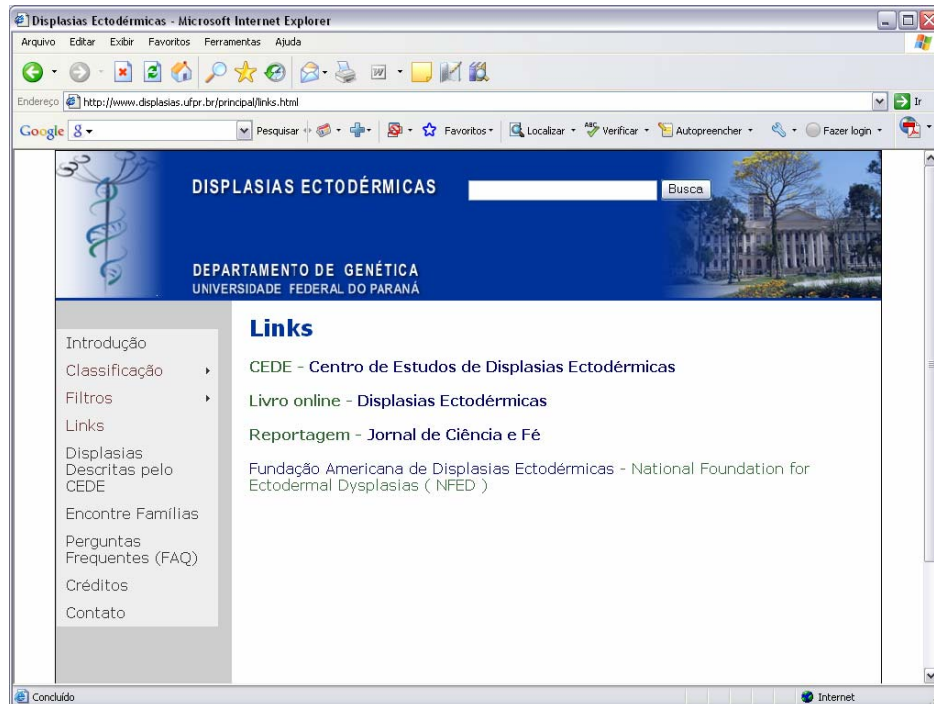


FIGURA 4.5 – *LINKS ÚTEIS*

## DISCUSSÃO

A estratégia de se eliminar os onze bancos de dados, que faziam parte do antigo site e de transformar as fichas de cada DE em uma página HTML, permitiu que o novo site fosse hospedado no servidor da UFPR, sob o domínio [www.displasias.ufpr.br](http://www.displasias.ufpr.br). Dois aspectos positivos são decorrentes disso. Em primeiro lugar, criou-se um endereço eletrônico simples e de fácil memorização. Em segundo lugar, manteve o site das displasias ectodérmicas vinculado à UFPR, que por se tratar de uma instituição de ensino e pesquisa de renome internacional, confere maior credibilidade ao site.

Vários recursos disponíveis no site anterior foram mantidos na nova versão, uma vez que eles se mostraram úteis. Isso ocorreu com alguns textos, com os fichários gerais e individuais, com o banco de imagens e os *links* úteis, que tiveram seus

conteúdos revisados (Ver capítulo 5). A ferramenta de busca por palavras-chave e o filtro clínico também foram mantidos.

Por outro lado, a criação das ferramentas *Contato* e *Cadastre-se* permitirá que pessoas com DE, ou seus familiares, se comuniquem com o CEDE, permitindo que suas dúvidas sejam dirimidas e que aconselhamento genético seja oferecido. Por outro lado, esse contato poderá facilitar o acesso de pesquisadores do CEDE a famílias com indivíduos portadores de DEs.

O novo site de displasias ectodérmicas permite novamente oferecer na internet informações sobre essas afecções que poderão ser de grande utilidade a um público bastante variado. O público-alvo do site é formado por profissionais da área da saúde (pediatras, dermatologistas, oftalmologistas, cirurgiões-dentistas, fisioterapeutas, enfermeiros, entre outros), professores e estudantes das áreas da saúde, da biologia e de outras áreas afins, famílias com indivíduos acometidos por DE, e pessoas leigas interessadas em aprofundar seu conhecimento sobre o tema. Por sua fácil navegação e sua linguagem coloquial, acredita-se que as informações contidas no site serão acessíveis à população de um modo geral.

Pode-se dizer que o site permite ao menos duas aplicações distintas, no que se refere ao tipo de informação e ao público-alvo. O *Filtro clínico*, baseados na resposta a questões sugeridas, e os *Fichários de DEs* específicas podem auxiliar a equipe médica no delineamento do diagnóstico e na obtenção de maiores informações sobre uma determinada afecção. Por outro lado, o acesso da população aos recursos como *Contato*, *FAQ* e *Cadastre-se* pode facilitar o acesso de portadores de DEs, ou de seus familiares, a informações específicas e personalizadas. Além disso, a opção *Encontre famílias* permitirá que famílias se comuniquem entre si. Isso é particularmente interessante para a troca de experiências, manifestações de apoio e indicações de cuidados aos pacientes displásicos.

## CONCLUSÃO

A criação do domínio [displasias.ufpr.br](http://www.displasias.ufpr.br) e a remodelação do antigo site de displasias ectodérmicas permitiu que a sua nova versão fosse hospedada no servidor da UFPR, no endereço eletrônico <http://www.displasias.ufpr.br>.

Além de permitir a pesquisa por parte de pessoas especializadas, a veiculação do site de DEs facilitará o acesso da população a informações confiáveis e atualizadas sobre esse grupo de afecções. Permitirá, também, que famílias com portadores de displasia ectodérmica entrem em contato, entre si ou com o CEDE, possibilitando a troca de experiências e de sugestões de cuidados. Pelo que foi exposto acima, acredita-se que essa ferramenta informatizada poderá melhorar a qualidade de vida dos pacientes displásicos. Além disso, propõe-se que esse site seja atualizado continuamente pelos membros do CEDE.

## **5 ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE *EDI* EM DEZ FAMÍLIAS BRASILEIRAS**

Os dados obtidos com a análise de mutações no gene *EDI* em dez famílias brasileiras, bem como a revisão das mutações nesse gene, descritas na literatura, serão utilizados para a redação de um artigo científico, que deverá ser submetido brevemente à publicação em um periódico de circulação internacional. Em quatro dessas famílias, ainda falta determinar a mutação, sendo que o sequenciamento está em andamento. De maneira semelhante à do capítulo anterior, será apresentada, a seguir, uma versão em português desse manuscrito.

### **DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA LIGADA AO CROMOSSOMO X E SUAS FORMAS AUTOSSÔMICAS: REVISÃO DAS ALTERAÇÕES DOS GENES *EDI*, *EDAR* E *EDARADD* E DESCRIÇÃO DE NOVAS MUTAÇÕES EM FAMÍLIAS BRASILEIRAS**

#### **INTRODUÇÃO**

Displasias ectodérmicas (DEs) são distúrbios do desenvolvimento do tecido ectodérmico e de suas estruturas acessórias. São caracterizadas por alterações em duas ou mais estruturas ectodérmicas, sendo que no mínimo uma dessas alterações ocorra em cabelos/pelos, dentes, unhas ou glândulas sudoríparas. Com base na ocorrência de alterações nestas quatro estruturas “clássicas”, Freire-Maia propôs uma classificação em que as DEs são separadas em dois grupos: grupo A, que compreende as afecções que acometem duas ou mais das estruturas acima e que é dividido em onze subgrupos; e grupo B, dividido em quatro subgrupos, e que combina sinal em apenas uma das quatro estruturas clássicas somado a alterações em outras estruturas de origem ectodérmica (FREIRE-MAIA, 1971, 1977). Exemplos dessas outras estruturas são o



timo, o sistema nervoso, a córnea e a conjuntiva, a tireóide e as glândulas mamárias, lacrimais (IRVINE, 2005) e salivares (LEXNER et al., 2008). Um estudo recente (VISINONI et al., 2009, submetido a publicação)<sup>1</sup> revisou as DEs do grupo A, listando 186 afecções pertencentes a este grupo e relacionou 64 genes e 3 regiões cromossômicas responsáveis pela manifestação de 62 diferentes DEs.

A Displasia ectodérmica hipodrótica ligada ao cromossomo X (XLHED na sigla inglesa, OMIM 305100), também conhecida como Síndrome de Christ-Siemens-Touraine (CST) é a mais comum das DEs (grupo A) e se caracteriza por tricodisplasia; hipodontia e alterações morfológicas dos dentes; hipoidrose com hipertermia; alterações nas unhas; fácies típica e alterações de pele. A XLHED é determinada por mutações no gene *EDI* (Xq12-q13.1), que codifica a ectodisplasina-A (EDA-A), uma proteína transmembrânica do grupo II que pertence à família dos ligantes do Fator de Necrose Tumoral (TNF). Por atuar na via do NF-κB, a EDA-A desempenha um papel importante no processo de regulação de transcrição de genes alvo dessa via (HEADON et al., 2001) necessários para a iniciação, desenvolvimento e diferenciação dos apêndices ectodérmicos (LAURIKKALA et al., 2001). A ação da ectodisplasina é dependente da sua interação com duas outras proteínas, EDAR (receptor da ectodisplasina) e EDARADD (adaptador do receptor EDAR) codificadas, respectivamente, pelos genes *EDAR* (2q11-q13) e *EDARADD* (1q42.2-q43). Mutações em qualquer um desses três genes, que levem à inativação de seus produtos protéicos, bloqueiam essa via sinalizadora e levam à manifestação do fenótipo displásico com diferentes padrões de herança: recessiva ligada ao sexo (gene *EDI*); autossômica dominante (ADHED, OMIM 129490) e autossômica recessiva (ARHED, OMIM 224900), causadas por alterações nos genes *EDAR* e *EDARADD*, respectivamente. Recentemente, casos de hipodontia não-sindrômica têm sido relacionados a mutações no gene *EDI* (TAO et al., 2005, TARPEY et al., 2007, FAN et al., 2008, HAN et al., 2008, LI et al., 2008, RASSOL et al., 2008). Visinoni et al. (2003) listaram 64

---

<sup>1</sup> VISINONI, A. F.; LISBOA-COSTA, T.; PAGNAN, N. A. B.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. A. Ectodermal dysplasias; clinical and molecular review. **Am. J. Med. Genet.** Submetido a publicação.

diferentes mutações do gene *EDI* responsáveis pela XLHED, sem que se observasse uma relação entre o tipo ou a localização da mutação com a gravidade ou diferenças de manifestação dessa DE.

O presente estudo identificou cinco mutações do gene *EDI* em seis famílias, sendo que duas delas, uma transversão e uma inserção, ainda não haviam sido descritas. Além disso, revisa as mutações descritas após a revisão de 2003, o que leva a um total de 123 mutações no gene *EDI*, sendo que oito delas condicionam um quadro de apenas hipodontia. Uma lista atualizada das mutações dos genes *EDAR* e *EDARADD*, responsáveis pelas formas autossômicas dessa displasia ectodérmica hipodróica (HED, na sigla inglesa), também é apresentada.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê Setorial de Pesquisa e pelo Comitê de Ética em Pesquisas, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná. Modelo do Termo de consentimento livre e esclarecido é apresentado no Apêndice 1.

### **Amostra**

A amostra deste estudo é composta de 89 indivíduos, que doaram sangue para a pesquisa, pertencentes a dez famílias brasileiras, aqui denominadas famílias de A até J. A seguir, será descrita cada uma dessas famílias, abordando o local de residência, número de indivíduos e principais características clínicas.

As amostras referentes às famílias A e B compreendem sangue de 55 indivíduos, de duas famílias supostamente não relacionadas, afetadas por XLHED que foram anteriormente estudadas (PINHEIRO et al., 1981; CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1981). Essas amostras de sangue foram coletadas em agosto de 1979 pelos professores Eleidi Alice Chautard-Freire-Maia, Marta Pinheiro e Sérgio Luiz

Primo-Parmo. Esse material se refere a residentes nas localidades de Guará, Guaratinguetá e Lorena, no estado de São Paulo (Família A), e de Guaratinguetá (SP), Caxambu, Brazópolis e Itajubá, no estado de Minas Gerais (Família B). O DNA dessas amostras de sangue foi extraído em 2001 e analisado por SSCA (VISINONI, 2002), porém sem que fosse detectada qualquer mutação.

A amostra da Família C é composta de sangue de cinco indivíduos pertencentes a uma família com um afetado por XLHED. Atualmente com 26 anos de idade, e residindo em São João da Barra (RJ), o afetado foi diagnosticado logo na infância por um médico do Rio de Janeiro, capital. O sangue foi coletado em julho de 2005, ocasião em que o probando foi examinado pela equipe do CEDE. Nesse exame se constatarem os sinais clássicos da XLHED, tais como hipoidrose e hipodontia graves. Não há consanguinidade entre os genitores desse indivíduo e tampouco há história de outros afetados na família. Esse último fato foi evidenciado através de ampla análise fotográfica de dezenas de familiares, sem que se observasse qualquer indício dessa displasia.

A família D é residente no Rio de Janeiro, capital, e apresenta três irmãos afetados. As informações a respeito dessa família foram obtidas por cartas e mensagens eletrônicas. A coleta de sangue (de dois dos irmãos afetados e de sua mãe) foi realizada na cidade em que a família reside e o material foi enviado, por SEDEX, juntamente com o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 1). Para essa coleta, mandaram-se agulhas e tubos vacutainer contendo EDTA, bem como instruções detalhadas para a coleta do sangue e envio do material (Apêndice 2). As amostras de sangue das demais famílias descritas abaixo também foram conseguidas por esse procedimento.

A família E, residente em São Paulo, capital, é composta de duas crianças (uma menina e um menino), sua mãe e sua avó materna. Tanto a menina quanto o menino apresentam sinais da XLHED. A mãe das crianças é cirurgiã-dentista e se descobriu portadora da XLHED durante suas aulas na Universidade de São Paulo. O diagnóstico foi posteriormente confirmado pelo Dr. Paulo Otto. Recebeu-se, através de

correspondência eletrônica, a descrição das características desses indivíduos: as crianças e sua mãe apresentam várias alterações dentárias (inclusive agenesias); cabelo em menor quantidade; ausência (mãe) e redução (crianças) de pelos corporais; e pele fina e ressecada. A redução da sudorese parece ser mais grave na mãe do que nos seus filhos. Ela também relatou a ausência da sua glândula mamária direita. A avó apresenta poucos pelos corporais e cabelos finos. Ela não relatou alterações dentárias.

Infelizmente, o menino não concordou em doar sangue e, portanto, só foram obtidas amostras dos outros três indivíduos já descritos.

A família F é composta por quatro indivíduos, dois irmãos, sendo apenas um afetado, e seus pais. O probando, com 4 anos de idade na data da coleta, apresentava todos os sinais clássicos de XLHED. As amostras foram enviadas de Uberlândia, MG, onde a família reside.

O probando da família G, residente em Porto Alegre, RS, e com nove anos de idade na época da coleta de sangue, apresenta os sinais clássicos de XLHED. Seu irmão mais velho e seus pais são aparentemente normais. A família manteve conversas telefônicas com o Dr. Newton Freire-Maia, que fez o diagnóstico clínico.

A amostra da família H é composta por sangue de cinco indivíduos residentes em Itabirinha, MG, sendo um deles um menino afetado com dois anos de idade. A mãe e a irmã do probando são clinicamente normais. A tia materna e sua filha, ambas aparentemente normais, completam essa amostra.

As famílias I e J, residentes respectivamente em Palmeiras dos Índios e União dos Palmares, AL, entraram neste estudo através da Dra. Eneida Lipinski Figueiredo, professora da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). A primeira dessas famílias compreende quatro afetados de duas irmandades e suas mães. A outra é formada por três afetados, de uma irmandade de 10 indivíduos (os demais são: três homens normais, duas mulheres aparentemente normais e outros dois afetados já falecidos por hipertermia) e seus pais. Nessas duas famílias os sinais clínicos dos afetados são compatíveis com a displasia ectodérmica hipodróica, enquanto que as mulheres, possivelmente heterozigotas, são aparentemente normais.

A tabela 5.1 mostra a distribuição dos indivíduos nestas dez famílias, cujos heredogramas se encontram nas figuras 5.1 (Família A), 5.2 (Família B), 5.3 (Família C) e 5.4 (Família D). Como as famílias E, F, G e H são compostas por apenas uma irmandade de afetados, os heredogramas não são mostrados, enquanto que as figuras 5.5 e 5.6 representam, respectivamente, as famílias I e J.

**TABELA 5.1 – NÚMERO DE AMOSTRAS CLASSIFICADAS POR FAMÍLIA E PELOS SINAIS CLÍNICOS.**

<b>Heredograma</b>		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>	<b>I</b>	<b>J</b>
<b>Número total de indivíduos</b>		26	29	5	3	3	4	3	5	6	<b>5</b>
<b>Homens</b>	Normais	8	7				2	1			<b>1</b>
	Afetados	8	4	1	2		1	1	1	4	<b>3</b>
<b>Mulheres</b>	Normais	1	1	4			1	1	4		
	Heterozigotas com sinais	5	11		1	3					
	Heterozigotas sem sinais	2	1							2	<b>1</b>
	Filhas de afetada, sem sinais	1	4								
	Fenótipo não determinado	1	1								

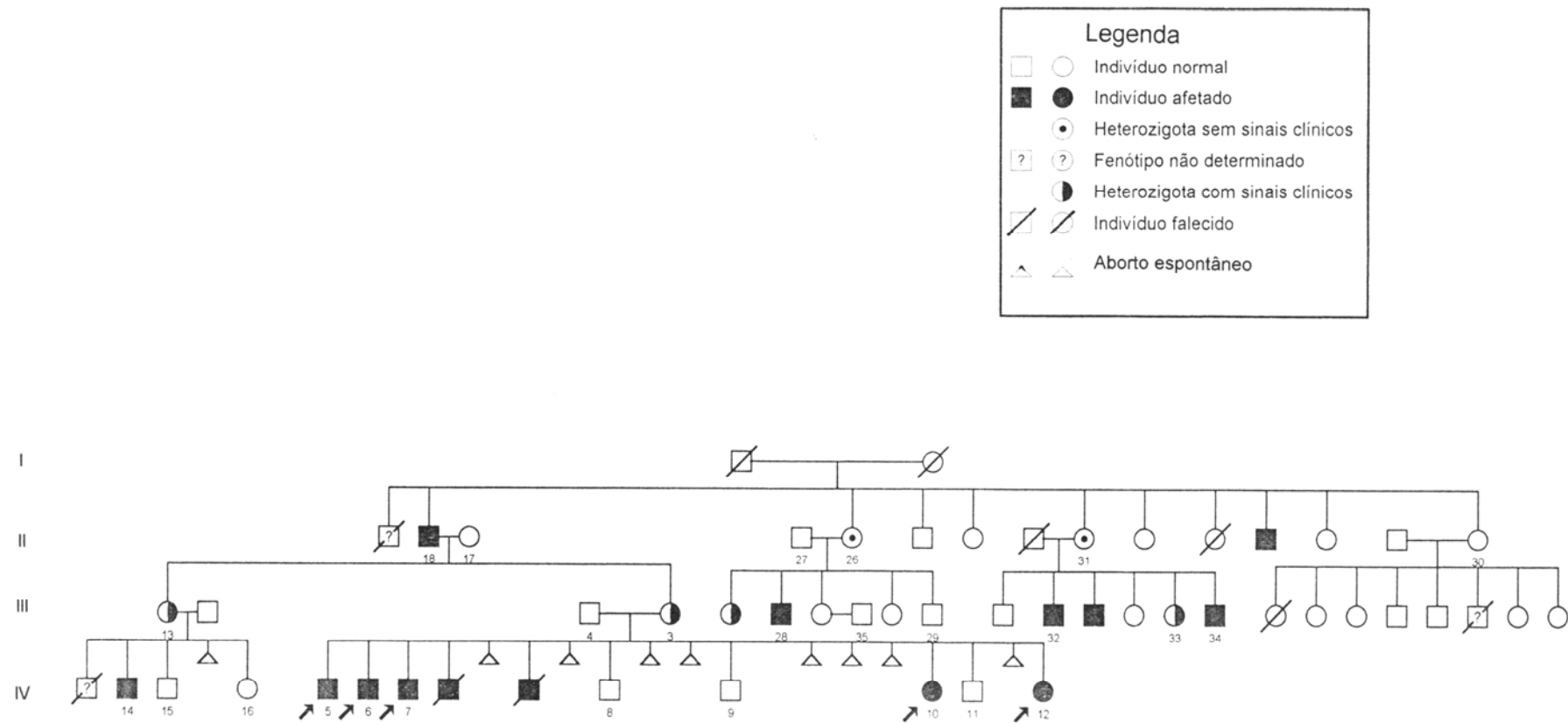


FIGURA 5.1 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA A

NOTA: Família cujos membros residem em Guaratinguetá e Lorena (SP). Os indivíduos identificados com um número são os que participam da amostra estudada.

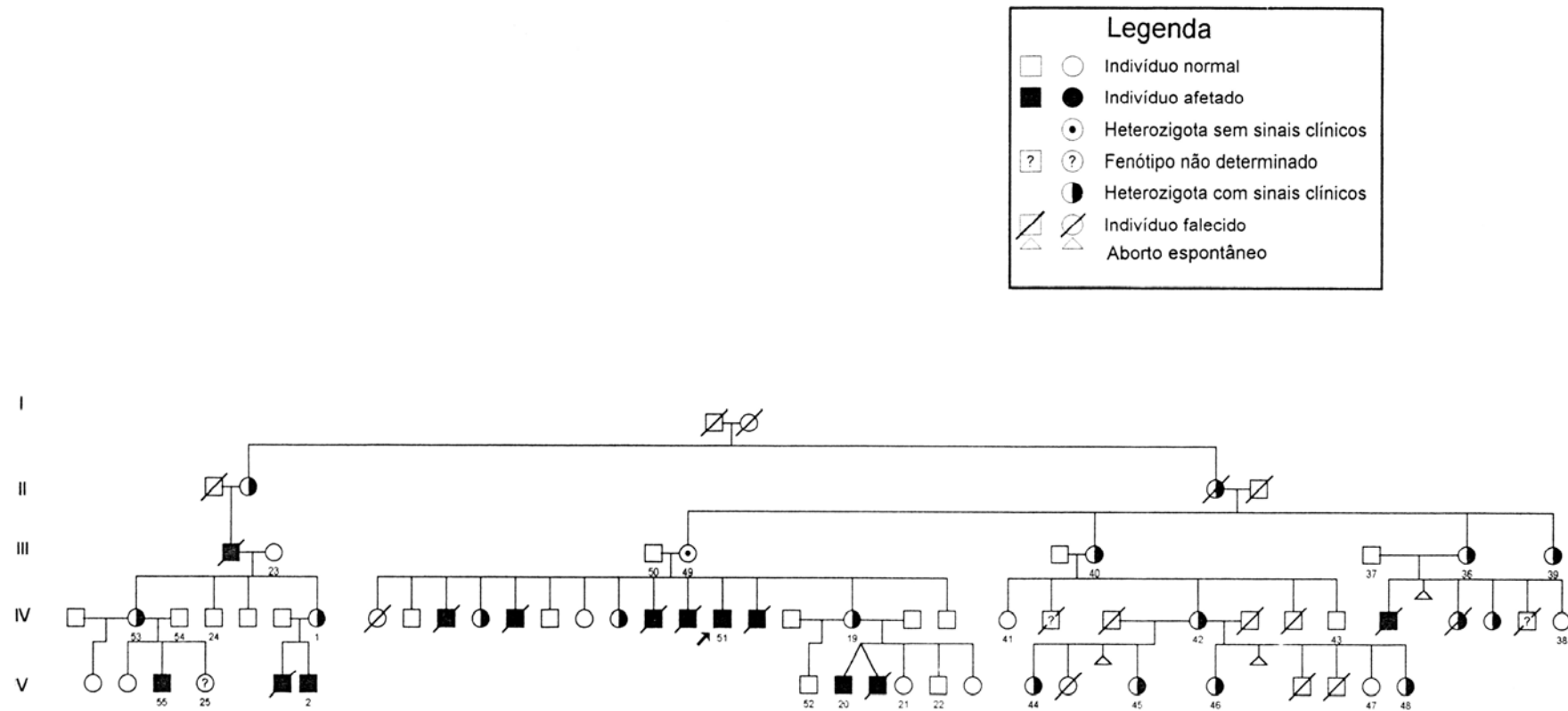


FIGURA 5.2 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA B

NOTA: família cujos membros residem em Guaratinguetá (SP), Caxambu, Brasópolis e Itajubá (MG). Os indivíduos identificados com um número são os que participam da amostra estudada.

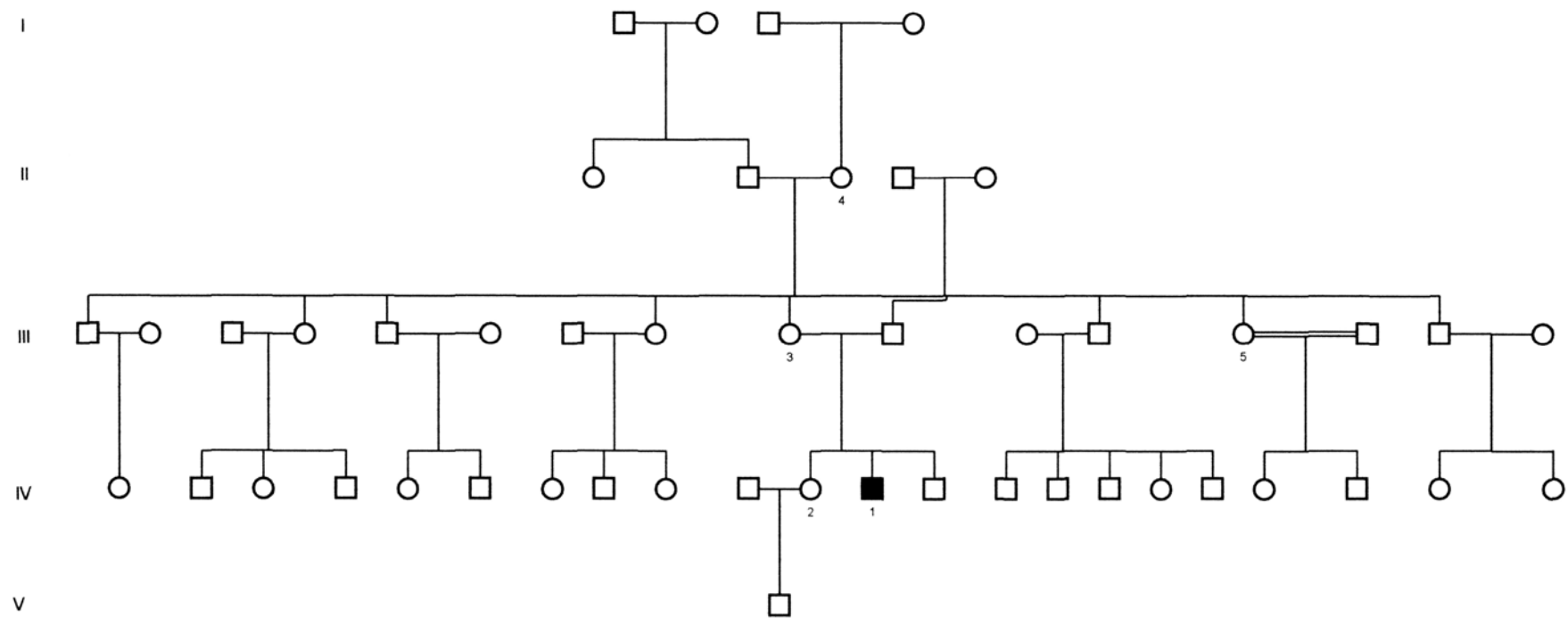


FIGURA 5.3 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA C

NOTA: família cujos membros residem em São João da Barra (RJ). Os indivíduos identificados com um número são os que participam da amostra e a eles se refere a legenda a seguir: ■ - Homem afetado; ○ - Mulher aparentemente normal.



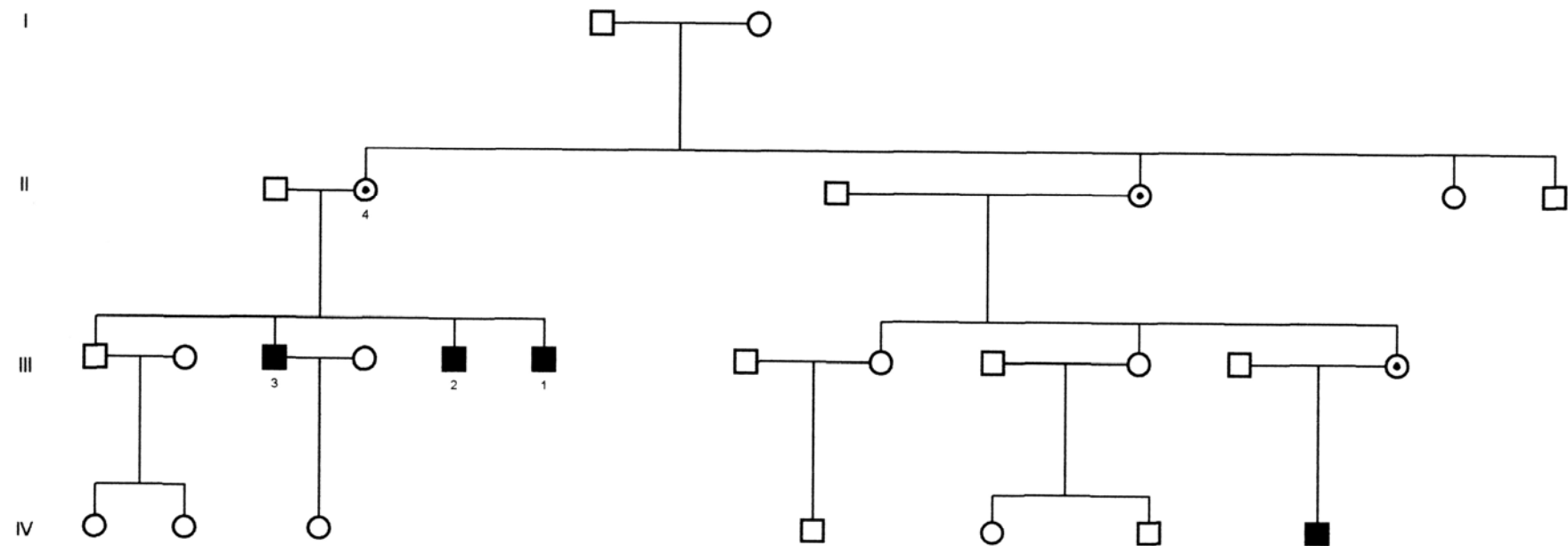


FIGURA 5.4 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA D

NOTA: família cujos membros residem no Rio de Janeiro (RJ). Os indivíduos identificados com um número são os que participam da amostra e a eles se refere a legenda a seguir: ■ - Homem afetado; ● - Heterozigota sem sinais clínicos aparentes.

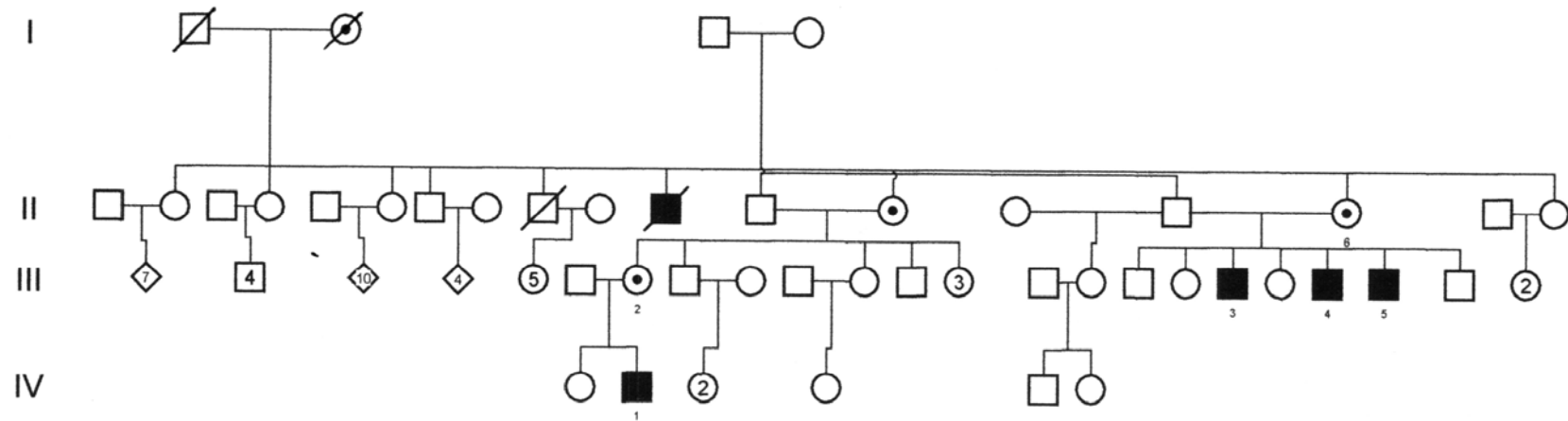


FIGURA 5.5 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA I

NOTA: família cujos membros residem em Palmeiras dos Índios (AL). Os indivíduos identificados com um número são os que participam da amostra e a eles se refere a legenda a seguir: ■ - Homem afetado; ● - Heterozigota sem sinais clínicos aparentes.

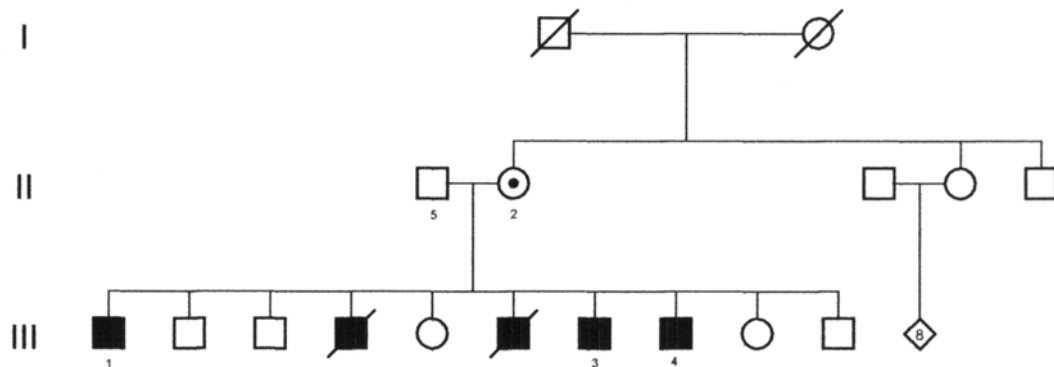


FIGURA 5.6 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA J

NOTA: Família cujos membros residem em União dos Palmares (AL). Os indivíduos identificados com um número são os que participam da amostra e a eles se refere a legenda a seguir: ■ - Homem afetado; □ - Homem normal; ● - Heterozigota sem sinais clínicos aparentes.

### Análise de mutações

O DNA foi extraído a partir de leucócitos obtidos de sangue periférico (10 ml) de acordo com o método de *salting-out* (LAHIRI e NURNBERGER, 1991). Os oito exons que codificam a ectodisplasina<sup>1</sup>, bem como regiões intrônicas adjacentes, foram amplificados por reação em cadeia da polimerase usando-se 18µl de PCR SuperMix (*Gibco BRL*), aproximadamente 150 ng de DNA e 10 pmoles de cada oligonucleotídeo iniciador. Os produtos de PCR foram enzimaticamente purificados pelo método EXO-SAP: a cada 10 µl de produto de PCR se adicionou 1µl de exonuclease I e 1µl de fosfatase alcalina de camarão (ambas da *GE Healthcare*) e se incubou a 37° C durante uma hora, seguida da desnaturação das enzimas a uma temperatura de 80°C durante quinze minutos. O sequenciamento foi realizado com o uso do kit *Big Dye Terminator* (*Applied Biosystems*), em sequenciador ABI 377, e a análise dos eletroferogramas foi

<sup>1</sup> A ectodisplasina-A é codificada pelos exons 1 e 3-9. O exon 2 não faz parte dessa isoforma da proteína (Ver figura 2.1).

realizada com o auxílio dos programas BioEdit (HALL, 1999) e Mega 3.1 (KUMAR; TAMURA; NEI, 2004). As mutações encontradas foram comparadas com aquelas já descritas. A consequência de cada mutação nova sobre a cadeia de aminoácidos foi comparada com a sequência de aminoácidos da ectodisplasina em oito diferentes espécies (*M. musculus*, *R. norvegicus*, *M. domestica*, *M. taurus*, *C. lupus*, *G. gallus*, *D. rerio* e *G. aculeatus*) com a finalidade de verificar se a alteração já estaria presente em alguma dessas espécies.

Uma descrição mais detalhada da metodologia empregada está incluída no Apêndice 3.

## RESULTADOS

Foram encontradas cinco diferentes mutações (Figura 5.7) no gene *ED1*, consideradas responsáveis pelo fenótipo XLHED em seis das famílias analisadas. Três destas mutações já foram descritas na literatura: *c.709G>A* (família C) e *c.1287G>A* (família D) e *c.1153A>G* (MONREAL et al., 1998; RAMADEVI et al., 2008), que foi encontrada em duas das famílias analisadas (F e I).

Foram encontradas duas mutações não descritas anteriormente: uma transversão, *c.1005G>C* (família G), que leva à substituição da glicina da posição 255 por uma arginina e uma inserção de uma citosina no nucleotídeo 464, que leva a uma alteração do quadro de leitura a partir do aminoácido 75 (família J).

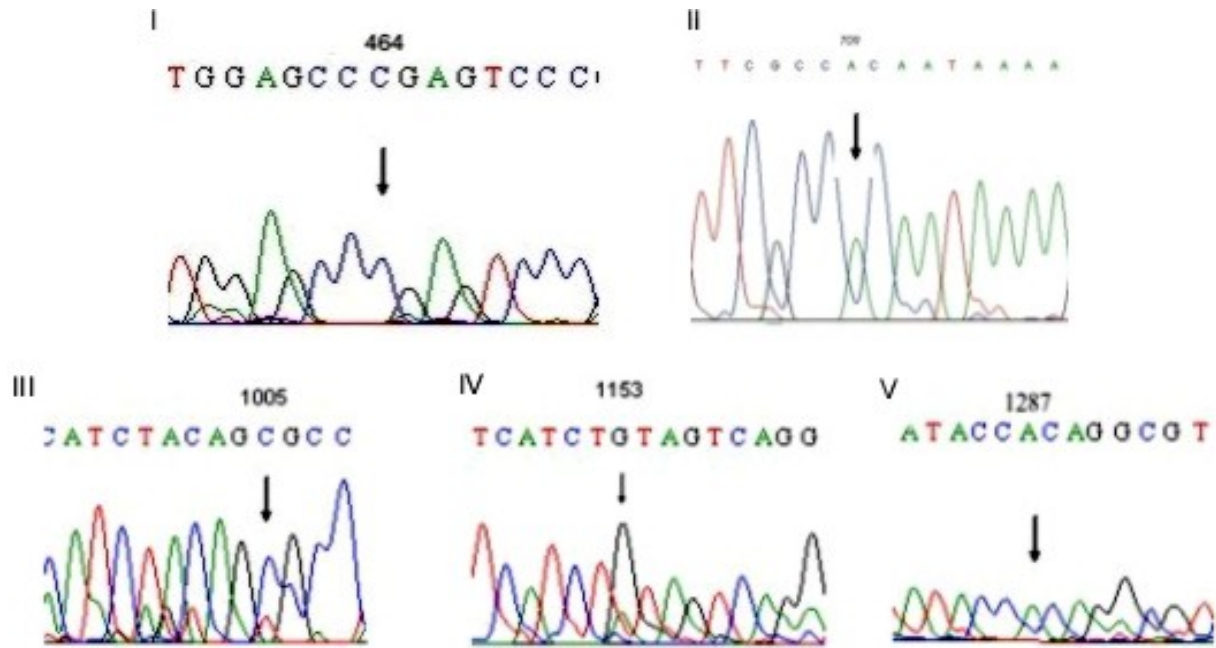


FIGURA 5.7 – ELETROFEROGRAMAS CONTENDO AS MUTAÇÕES ENCONTRADAS NO GENE *EDI* EM AMOSTRAS DE SEIS FAMÍLIAS BRASILEIRAS

NOTAS: I, Inserção *c.464insC* (Família J); II, Transição *c.709G>A* (Família C); III, Transversão, *c.1005G>C* (família G); IV, Transição *c.1153A>G* (Famílias F e I); V, Transição *c.1287G>A* (Família D).

## DISCUSSÃO

As mutações *c.709G>A* e *c.1287G>A*, respectivamente nos exons 3 e 9 (MONREAL; ZONANA; FERGUSON, 1998), e *c.1153A>G* no exon 8 (RAMADEVI et al., 2008) foram anteriormente descritas e relacionadas com o fenótipo XLHED. A detecção de tais mutações em indivíduos deste estudo reforça a hipótese de que essas três alterações do gene *EDI* realmente ocasionem o surgimento da XLHED. Além dessas, duas mutações do gene *EDI* inéditas foram observadas neste estudo: *c.464\_465insC* (exon 1) e *c.1005G>C* (exon 7).

A mutação *c.464\_465insC*, que ocorre no segmento gênico responsável pela codificação da porção inicial do domínio extracelular da ectodisplasina, leva a uma alteração do quadro de leitura a partir do aminoácido 75 e ao término da tradução no

aminoácido 99. Como essa mutação ocorre na porção inicial do gene *EDI*, apenas os domínios intracelular e transmembrânico são preservados, impedindo a produção da ectodisplasina-A. Por se tratar de uma mutação que resulta na quase total alteração da proteína, ela foi imediatamente responsabilizada pelo surgimento da XLHED na família analisada.

A outra mutação ainda não descrita na literatura, *c.1005G>C*, acarreta a substituição da glicina da posição 255 da ectodisplasina por uma arginina, alterando a porção inicial do subdomínio semelhante ao colágeno da ectodisplasina. O efeito dessa mutação sobre a estrutura da proteína foi comparado com a cadeia de aminoácidos da ectodisplasina de oito espécies evolutivamente distantes (*M. musculus*, *R. norvegicus*, *C. lupus*; *B. taurus*, *G. gallus*, *D. rerio*, *G. aculeatus* e *M. domestica*). Como a glicina dessa posição está conservada em todas as espécies analisadas, a mutação *c.1005G>C* foi considerada responsável pelo surgimento do fenótipo displásico. Além disso, estudos de terapia da DE equivalente à XLHED humana foram realizados recentemente por Gaide e Schneider (2003) e Casal et al. (2007). Essa terapia consistiu em administrar a fêmeas prenhes de camundongo (GAIDE e SCHNEIDER, 2003) ou a cães recém-nascidos (CASAL et al., 2007) uma forma recombinante de EDA-A. Essa proteína, chamada Fc:EDA1, combina o domínio da ectodisplasina semelhante ao TNF com uma imunoglobulina e foi capaz de prevenir ou reverter o fenótipo displásico nos animais estudados, respectivamente. Os resultados desses experimentos, somados à constatação de que o exon 7 é o que acumula o maior número proporcional de mutações (como será discutido abaixo), comprovam a importância do domínio de TNF no correto funcionamento da ectodisplasina, corroborando a responsabilidade da mutação *c.1005G>C* no surgimento da XLHED.

Ainda não foi possível detectar mutação no gene *EDI* em quatro das dez famílias analisadas. Tal fato é decorrente da dificuldade em se amplificar alguns dos exons nas amostras de DNA referentes a esses indivíduos. Também é possível que existam alterações em regiões reguladoras ou intrônicas não examinadas do gene *EDI*, que possam levar ao surgimento da DE nessas famílias. Essa possibilidade já foi sugerida por Chassaing et al. (2006), Zhao et al. (2007), Conte et al. (2008), e não deve

ser descartada no caso das famílias A e B, nas quais o padrão de herança ligado ao sexo foi fortemente estabelecido. Além disso, os exons do gene *EDI* de amostras dessas duas famílias foram anteriormente examinados através de PCR-SSCA (sigla inglesa para reação em cadeia da polimerase – análise conformacional de fita simples) sem que se encontrassem alterações (VISINONI, 2002). Por outro lado, não se pode excluir a possibilidade do surgimento da HED nas famílias E e H devido a mutações nos genes *EDAR* e *EDARADD*, que ocasionam as formas autossômicas de HED. Como essas famílias não são grandes e o número de indivíduos afetados é pequeno, o padrão de herança autossômico não pode ser ignorado.

Outro fator que não pode ser menosprezado ao se analisar a ausência de mutações no gene *EDI* é o papel da ectodisplasina na regulação da transcrição. Tanto a ectodisplasina, quanto o receptor *EDAR* (e seu adaptador), participam de uma complexa via de transdução de sinal, onde outros genes ainda não identificados podem estar envolvidos. Por isso, mutações em tais genes poderiam levar a um fenótipo HED semelhante àquele decorrente de alterações em *EDI*, *EDAR* e *EDARADD* (CHASSAING et al., 2006).

Uma atualização inédita das mutações detectadas nos genes *EDI* e *EDAR*, relacionadas com as formas ligada ao sexo e autossômicas das HED, são mostradas nas tabelas 5.2 e 5.3, respectivamente. A tabela 5.2 lista 51 mutações responsáveis pela XLHED e oito mutações que condicionam hipodontia não-sindrômica ligada ao sexo, que somadas às de revisão anterior (VISINONI et al., 2003) totalizam 123 mutações. A tabela 5.3 relaciona as 24 mutações do gene *EDAR* responsáveis pelas formas HED autossômica recessiva (ARHED) e autossômica dominante (ADHED). Apenas duas mutações do gene *EDARADD* foram descritas até o momento como responsáveis, respectivamente, por ARHED e ADHED: *c.424G>A*, que leva à substituição da glutamina da posição 142 por uma lisina (HEADON et al., 2001) e *c.335T>G*, que substitui uma leucina por uma arginina no aminoácido 112 do adaptador *EDARADD* (BAL et al., 2007).

Trabalhos anteriores (SCHNEIDER et al., 2001; VINCENT et al., 2001 e VISINONI et al., 2003) traziam entre cinquenta e duas a 64 mutações no gene *EDI*

responsáveis pela XLHED. No momento, são apresentadas 59 novas mutações neste gene, em relação ao trabalho de Visinoni et al. (2003), totalizando 123 mutações em *ED1*, 30 delas ausentes em *The Human Gene Mutation Database* (HGMD, [www.hgmd.cf.ac.uk/ac](http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac), acesso em 01/12/2008), sendo que as mutações detectadas por Conte et al., 2008 foram submetidas, mas ainda não estão disponíveis neste banco de dados. Deste total de 123 mutações, oito levam a um quadro de hipodontia isolada de herança ligada ao cromossomo X, enquanto que as demais 115 mutações ocasionam o fenótipo XLHED.



TABELA 5.2 – MUTAÇÕES NO GENE *ED1* (N = 59) RELACIONADAS COM O FENÓTIPO XLHED OU COM HIPODONTIA ISOLADA<sup>a</sup> DESCRITAS APÓS VISINONI ET AL. (2003)

Continua

Alteração de nucleotídeo <sup>b</sup>	Exon	Intron	Efeito no polipeptídeo	Referência
<b>Domínio Intracelular (aminoácidos 1 a 40)</b>				
<i>c.243A&gt;C</i>	1		p.M1L, perda de iniciação	Vincent et al. (2001)
<i>c.244T&gt;C<sup>c</sup></i>	1		p.M1T, perda de iniciação	Zhao et al. (2008)
<i>c.251C&gt;G</i>	1		p.Y3X	Conte et al. (2008)
<i>c.273del C</i>	1		p.11fs	Hashiguchi, Yotsumoto, Kanzaki (2003)
<i>c.291del C</i>	1		p.17fs	Hashiguchi, Yotsumoto, Kanzaki (2003)
<i>c.307del G</i>	1		p.22fsX34	Vincent et al. (2001)
<b>Domínio Transmembrânico (aminoácidos 41 a 62)</b>				
<i>c.394T&gt;A</i>	1		p.L51Q	Conte et al. (2008)
<i>c.404A&gt;G</i>	1		p.H54R	Conte et al. (2008)
<i>c.420T&gt;C</i>	1		p.C60R	Vincent et al. (2001)
<i>c.427T&gt;C<sup>c</sup></i>	1		p.L62P	Zhao et al. (2008)
<b>Domínio Extracelular (aminoácidos 63 a 391)</b>				
<i>c.435C&gt;G</i>	1		p.R65G <sup>a</sup>	Tao et al. (2005)
<i>c.442A&gt;T</i>	1		p.E67V <sup>a</sup>	Fan et al. (2008)
<i>c.464ins C</i>	1		p.75fs	Este estudo
<i>c.486_494del9</i>	1		p.G82_P84del	Conte et al. (2008)
<i>c.487delG<sup>c</sup></i>	1		p.82fsX90	Lexner et al. (2008)
<i>Deleção dos exons 1-3<sup>c</sup></i>	1-3		Sem formação da proteína	Lexner et al. (2008)
<b>Sub-domínio de Clivagem pela Furina (aminoácidos 150 a 159)</b>				
<i>c.733A→C<sup>c</sup></i>	3		p.E164A	Fan et al. (2008)
<i>g.406718_417085del10369</i>	4-7	3-7	p.G168_G265del	Conte et al. (2008)
<i>Deleção dos exons 4-7<sup>c</sup></i>	4-7			Lexner et al. (2008)
<b>Sub-domínio de Colágeno (aminoácidos 180 a 235)</b>				
<i>c.771_772delAA, c.770A&gt;G</i>	5		p.177fs	Vincent et al. (2001)
<i>c.779_814del36</i>	5		p.A179_P191del	Conte et al. (2008)
<i>816insT<sup>c</sup></i>	5		p.192fs	Huang et al. (2006)
<i>826G&gt;A<sup>c</sup></i>	5		p.G195E	Zhao et al. (2008)
<i>c.831_841ins10<sup>c</sup></i>	5		p.197fsX259	Vincent et al. (2001)
<i>c.856_875ins19<sup>c</sup></i>	5		p.205fsX244	Vincent et al. (2001)
<i>c.878delT<sup>c</sup></i>	5		p.212fsX279	Lexner et al. (2008)
<i>IVS5+1 (c.948+1) G&gt;A<sup>c</sup></i>		5	Processamento alterado <sup>a</sup>	Fan et al. (2008)
<i>IVS5-13 (c.949-13) T&gt;C</i>		5	Processamento alterado	Conte et al. (2008)
<i>IVS6+1 (c.983+1) G&gt;A</i>		6	Processamento alterado	Conte et al. (2008)
<b>Sub-domínio Semelhante ao TNF (aminoácidos 250 a 391)</b>				
<i>c.996C&gt;T</i>	7		p.H252Y	Vincent et al. (2001)
<i>c.1000T&gt;C<sup>c</sup></i>	7		p.L253P	Fan et al. (2008)
<i>c.1005G&gt;C<sup>c</sup></i>	7		p.G255R	Este estudo
<i>c.1035+4A&gt;T</i>		7	Processamento alterado	Conte et al. (2008)
<i>c.1035+5G&gt;C<sup>c</sup></i>		7	Processamento alterado	Lexner et al. (2008)
<i>c.1048G&gt;T</i>	8		p.G269V	Vincent et al. (2001)
<i>c.1078T&gt;G<sup>c</sup></i>	8		p.M279R	RamaDevi et al. (2008)
<i>c.1147T&gt;C</i>	8		p.F302S	Vincent et al. (2001)
<i>c.1153A&gt;G<sup>c</sup></i>	8		p.Y304C	RamaDevi et al. (2008)
				Este estudo
<i>c.1160G&gt;C</i>	8		p.Q306H	Hsu, Chao, Lu (2003)
<i>c.1155insTATA<sup>c</sup></i>	8		p.304fsX305	Tariq et al. (2007)
<i>c.1166+1G&gt;T</i>		8	Processamento alterado	Conte et al. (2008)

TABELA 5.2 – MUTAÇÕES NO GENE *EDI* (N = 59) RELACIONADAS COM O FENÓTIPO XLHED OU COM HIPODONTIA ISOLADA<sup>a</sup> DESCRITAS APÓS VISINONI ET AL. (2003)

Conclusão

Alteração de nucleotídeo <sup>b</sup>	Exon	Intron	Efeito no polipeptídeo	Referência
<b>Sub-domínio Semelhante ao TNF (aminoácidos 250 a 391)</b>				
<i>c.1166+2T&gt;C<sup>c</sup></i>		8	Processamento alterado	Lexner et al. (2008)
<i>c.1166+5delG</i>		8	Processamento alterado	Zhang et al. (2003)
<i>c.1168T&gt;G<sup>c</sup></i>	9		p.V309G	Fan et al. (2008)
<i>c.1188G&gt;T</i>	9		p.D316H	Conte et al. (2008)
<i>c.1189A&gt;G<sup>c</sup></i>	9		p.D316G	Lexner et al. (2008)
<i>c.1189A&gt;G<sup>c</sup></i>	9		p.D316G <sup>a</sup>	Li et al. (2008)
<i>c.1190C&gt;G<sup>c</sup></i>	9		p.D316E	Lexner et al. (2008)
<i>c.1194delG<sup>c</sup></i>	9		p.317fs	Zhang et al. (2009)
<i>c.1237G&gt;T</i>	9		p.C332P	Conte et al. (2008)
<i>c.1242_1248del7</i>	9		p.334fsX369	Lin et al. (2004)
<i>c.1244_1256del13<sup>c</sup></i>	9		p.335fsX369	Lexner et al. (2008)
<i>c.1255C&gt;G<sup>c</sup></i>	9		p.T338M <sup>a</sup>	Han et al. (2008)
<i>c.1255C&gt;T<sup>c</sup></i>	9		p.T338M <sup>a</sup>	Li et al. (2008)
<i>c.1302_1304del3</i>	9		p.L354del	Conte et al. (2008)
<i>c.1311delC</i>	9		p.357fsX374	Vincent et al. (2001)
<i>c.1314C&gt;G<sup>c</sup></i>	9		p.Q358E <sup>a</sup>	Tarpey et al. (2007)
<i>c.1333T&gt;C<sup>c</sup></i>	9		p.M364T <sup>a</sup>	Rasool et al. (2008)
<i>c.1416T&gt;C</i>	9		p.X392Q	Hashiguchi, Yotsumoto, Kanzaki (2003)
Deleção de todo o gene <i>EDI</i>	1-9		Sem produção da proteína	Vincent et al. (2001)

NOTAS: <sup>a</sup> Algumas mutações no gene *EDI* levam apenas à hipodontia, sem a manifestação dos demais sinais displásicos. <sup>b</sup> A numeração parte do primeiro nucleotídeo do exon 1. Alguns trabalhos seguem numeração que se inicia no nucleotídeo 243 (início da tradução). <sup>c</sup> Ausente em *The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff*, HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>, acessado em 01/12/08).

TABELA 5.3 – MUTAÇÕES NO GENE *EDAR* (N = 24) RELACIONADAS COM O FENÓTIPO DE DISPLASIA ECTODÉRMICA HIPOIDRÓTICA DE HERANÇA AUTOSSÔMICA DOMINANTE (ADHED) OU RECESSIVA (ARHED)

Alteração de nucleotídeo	Exon	Intron	Efeito no polipeptídeo	Padrão de herança <sup>a</sup>	Referência
<b>Domínio extracelular (<i>Ligand binding domain</i>)</b>					
<i>c.140G&gt;A</i>	3		p.C47Y	AR	Chassaing et al. (2006))
<i>c.259T&gt;C</i>	4		p.C87R	AR	Monreal et al. (1999)
<i>c.266G&gt;A</i>	4		p.R89H	AR	Monreal et al. (1999)
<i>c.329A&gt;C</i>	4		p.D11 A	AR	Chassaing et al. (2006)
<i>c.399_404delGGTCTG</i> <sup>b</sup>	5		p.133_135delinsI	AR	Tariq et al. (2007)
<i>c.442T&gt;C</i>	5		p.C148R	AR	Chassaing et al. (2006)
<i>c.478delC</i> <sup>b</sup>	6		p.160fsX242	AR	RamaDevi et al. (2008)
<b><i>Death domain</i></b>					
<i>c.1118C&gt;T</i> <sup>b</sup>	12		p.T373M	AD	Valcuende-Cavero et al. (2008)
<i>c.1124G&gt;A</i>	12		p.R375H	AR	Shimomura et al. (2004)
<i>c.1129C&gt;T</i>	12		p.L377F	AD	Chassaing et al. (2006)
<i>c.1144G&gt;A</i>	12		p.G382S	AR	Naeem, Muhammad e Ahmad (2005)
<i>c.1208C&gt;T</i>	12		p.T403M	AR	Chassaing et al. (2006)
<i>c.1237A&gt;C</i>	12		p.T413P	AD	Chassaing et al. (2006)
<i>c.1253T&gt;C</i>	12		p.I418T	AD <sup>c</sup>	Chassaing et al. (2006)
<i>c.1259G&gt;A</i>	12		p.R420Q	AD	Monreal et al. (1999)
<b>Mutações intrônicas ou de domínio afetado não esclarecido</b>					
<i>c.51+1 (IVS2+1) G&gt;A</i>		2	Processamento alterado	AR	Shimomura et al. (2004)
<i>c.52-25 (IVS2-25) del8pb</i>		2	Processamento alterado	AR	Monreal et al. (1999)
<i>c.175_356del181</i> (Deleção do exon 4)	4			AR	Monreal et al. (1999)
<i>c.528+1 (IVS6+1) G&gt;A</i>		6	Processamento alterado	AR	Chassaing et al. (2006)
<i>c.718_721delAAAG</i>	8		Processamento alterado	AR	Naeem, Muhammad e Ahmad (2005)
<i>IVS9+1G&gt;A</i> <sup>b</sup>		9	Processamento alterado	AR	Mégarbané et al. (2008)
<i>c.1060G&gt;T</i> <sup>b</sup>	12		p.E354X	AD	Van der Hout et al. (2008)
<i>c.1072C&gt;T</i>	12		p.R358X	AD	Monreal et al. (1999)
<i>c.1302G&gt;T</i>	12		p.W434C	AR	Chassaing et al. (2006)

NOTAS: <sup>a</sup> AR, autossômica recessiva; AD, autossômica dominante. <sup>b</sup> Ausente em *The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff*, HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>, acessado em 01/12/08). <sup>c</sup> A responsabilidade desta mutação no surgimento do fenótipo HED não foi totalmente estabelecida.

Oitenta e duas mutações (66,7%) são substituições de nucleotídeos, 23 (18,7%) são deleções de até 36 pb e apenas dez (8,1%) são inserções de nucleotídeos. As oito mutações restantes são grandes deleções, de pelo menos um exon inteiro, ou combinação de deleção e transição (Tabela 5.4). No que se refere à localização das mutações, cerca de 53% ocorrem nos exons 1 e 9, enquanto que apenas três (2,9%)

foram encontradas no exon 6 e nenhuma no exon 4. Parte dessa distribuição não-uniforme poderia ser explicada pelo tamanho dos exons sendo que os exons 1 (396 pb) e 9 (249 pb) são os maiores, e os exons 6 (35 pb) e 4 (apenas 24 pb) são os menores. Porém, quando se compara o número de mutações em relação ao número de nucleotídeos de cada exon, percebe-se que o maior número de mutações ocorre, proporcionalmente, nos exons 7, 5 e 9 (Tabela 5.5). Este fato pode ser explicado pela função desses exons de codificarem domínios essenciais para o funcionamento da EDA-A. Enquanto que o exon 5 é responsável pela codificação completa do subdomínio de colágeno, essencial para a trimerização da proteína, os exons 7 e 9 (juntamente com o exon 8) são responsáveis pelo subdomínio semelhante ao TNF, que representa a porção da proteína que se liga ao receptor EDAR (Ver tabela 5.2). Além das mutações que ocorrem em sete dos oito exons do gene *EDI*, responsáveis pela codificação da EDA-A, doze mutações foram encontradas nos introns 5, 6, 7 e 8, levando à alteração do processamento do RNAm. As mutações restantes são representadas por cinco grandes deleções que levam desde a perda de um exon inteiro à deleção de todo o gene *EDI*.

TABELA 5.4 – TIPOS DE MUTAÇÕES NO GENE *EDI*

Tipo de mutação	N	%
Substituições	82	66,66
Deleções	23	18,70
Inserções	10	8,13
Deleções de exon(s)	5	4,07
Deleções + substituições	2	1,63
Deleção de todo o gene <i>ED1</i>	1	0,81
Total	123	100,00

Existem ao menos quatro pontos de deleção do gene *EDI* com início incerto. Devido a sequências repetitivas, essas deleções podem se iniciar em diferentes pontos do DNA sem que isto cause uma diferença no produto protéico. Tais deleções são as

iniciadas entre os nucleotídeos (nt) 779-787 (CONTE et al., 2008), 789-795, 801-814 e 891-901 (BAYÉS et al., 1998).

TABELA 5.5 – MUTAÇÕES<sup>a</sup>, POR EXON, NO GENE *EDI* – FREQUÊNCIAS E MÉDIA POR NUCLEOTÍDEO

Exon	N	%	Tamanho do exon (nt <sup>b</sup> )	Mutações/Nt <sup>b</sup>
1	30	28,57	396	0,076
3	8	7,62	106	0,075
4	0	0	24	0
5	19	18,10	180	0,106
6	3	2,85	35	0,086
7	7	6,67	52	0,135
8	12	11,43	131	0,092
9	26	24,76	249	0,104
Total	105	100,00	1173	0,090

NOTAS: <sup>a</sup> Exceto mutações em introns (N = 12) e deleções de exon(s) inteiro(s) (N = 5) e de todo o gene *EDI* (N = 1). <sup>b</sup> Nucleotídeo.

Entre as mutações responsáveis apenas por hipodontia, duas estão localizadas no exon 1 (domínio extracelular), cinco no exon 9 (subdomínio semelhante ao TNF) e uma no intron 5, o qual afeta o subdomínio do colágeno pela alteração do processamento do RNAm. Uma situação interessante ocorre com a mutação *c.1189A>G* (p.N316G) observada no exon 9 e relatada em dois diferentes trabalhos. Lexner et al. (2008) sugerem que esta mutação é responsável pelo surgimento do fenótipo XLHED, enquanto que Li et al. (2008) a relacionam com o surgimento de apenas hipodontia. O primeiro trabalho adotou a metodologia de sequenciar apenas os exons cujos produtos de PCR apresentassem alterações nos padrões de bandas de SSCA (sigla inglesa para análise de polimorfismos de cadeia simples), enquanto que Li et al. (2008) sequenciaram todos os oito exons de *EDI* dos indivíduos afetados. Por este motivo, é possível que a mutação detectada por Lexner et al. (2008) não esteja relacionada com o fenótipo XLHED, e que outra alteração do gene *EDI*, que não tenha sido detectada pela SSCA, seja responsável pela DE. Contudo, a ocorrência de duas mutações no gene *EDI* em uma mesma família parece ter uma baixa probabilidade de

ocorrência. Novos estudos deverão ser conduzidos nessas famílias com a finalidade de se compreender o real efeito desta mutação.

Chassaing et al (2006) e Lind et al. (2006) relacionam dezenove mutações no gene *EDAR*, todas elas presentes no HGMD. Este trabalho relaciona outras cinco mutações desse gene (TARIQ et al., 2007; MÉGARBANÉ et al., 2008; RAMADEVI et al., 2008; VALCUENDE-CAVERO et al., 2008; VAN DER HOUT et al., 2008), totalizando 24 mutações (Tabela 5.3), dezessete responsáveis pela forma ARHED (exons 3, 4, 5, 6 e 8; introns 2, 6 e 9) e sete pela ADHED (exon 12).

Apenas duas mutações foram descritas, até o momento, no gene *EDARADD*. Uma delas, *c.424G>A*, é responsável pela ARHED (HEADON et al., 2001) e outra, *c.335T>G*, pela ADHED (BAL et al., 2007). Apenas a primeira destas mutações está listada no HGMD.

## CONCLUSÃO

Este trabalho atualiza as 123 mutações do gene *EDI* responsáveis pela XLHED (N = 115) ou por hipodontia não-sindrômica (N = 8), bem como relaciona as 24 mutações do gene *EDAR* e as duas do gene *EDARADD*, descritas até o momento como responsáveis pelas formas autossômicas dominante e recessiva da HED.

As duas novas mutações do gene *EDI*, descritas neste trabalho, são compatíveis com o surgimento da displasia ectodérmica hipodróica ligada ao cromossomo X nas famílias analisadas. Caso não se detectem mutações, quando forem examinados os exons ainda não analisados de quatro dessas famílias, serão necessários estudos subsequentes, focalizando os genes *EDAR* e *EDARADD*, para que se entenda a razão do fenótipo displásico.

## 6 DISCUSSÃO GERAL

Muitas descobertas ao nível molecular têm sido feitas recentemente, trazendo conhecimentos que permitem novas abordagens para o estudo de uma infinidade de doenças de etiologia genética. Isso ocorre tanto pela descoberta de genes responsáveis por determinadas afecções, quanto pela possibilidade de desenvolvimento de métodos eficazes de diagnóstico, pesquisa e, futuramente, tratamento.

Uma das oportunidades dessas descobertas é a possibilidade de se lançar um novo enfoque sobre o conhecimento acumulado até o momento. Isto está ocorrendo com as displasias ectodérmicas, uma vez que descobertas de genes, condicionadores dessas afecções, estão sendo feitas constantemente. Essas descobertas ao nível do DNA estão levando vários pesquisadores a propor outros critérios para a definição e, conseqüentemente, para a classificação das displasias ectodérmicas. Essas novas classificações são baseadas na função do gene, ou seu produto, permitindo agrupar as afecções de acordo com as funções estruturais, de sinalização ou outras, desempenhadas por tais genes. Essa abordagem é bastante promissora, pois é muito útil para o maior entendimento sobre a patogênese das displasias ectodérmicas e também para o estudo de métodos eficazes de sua prevenção e tratamento.

Infelizmente, o número de genes identificados como responsáveis pelas DEs ainda é pequeno – cerca de 30% delas têm o seu gene, ou genes, identificados. Por esse motivo, os métodos de classificação baseados na função gênica, ou de seu produto, ainda tem um alcance limitado, pois a grande maioria das afecções ficaria de fora dessas abordagens de classificação. Isto não quer dizer que esses métodos não sejam relevantes. Pelo contrário, como foi mencionado acima, a classificação baseada na função gênica permitirá agrupar DEs com patogênese semelhante, permitindo estudos direcionados à sua melhor identificação, prevenção e tratamento. Contudo, esta é uma ótima perspectiva futura, que demandará tempo e muita pesquisa.

Por outro lado, é importante que os profissionais de saúde que atendem pacientes portadores de DEs (tais como pediatras, dermatologistas, cirurgiões-

dentistas, fonoaudiólogos, fisioterapeutas, biólogos, entre outros) disponham de um método claro e fácil de identificação da afecção. Isto será importante para um rápido estabelecimento do diagnóstico, permitindo uma abordagem terapêutica, ou mesmo preventiva, o mais precocemente possível.

Pelo motivo mencionado acima, e enquanto o conhecimento molecular não estiver disponível para a grande maioria das DEs, o método clínico de classificação dessas entidades parece ser o mais adequado. É claro que esta classificação, como qualquer outra, possui um grau de artificialidade, onde os critérios de inclusão/exclusão são determinados de maneira arbitrária pelos pesquisadores. Também é possível que, futuramente, novos métodos de diagnóstico estejam disponíveis e, assim, classificações menos artificiais possam ser elaboradas.

Outro aspecto importante que o autor volta a discutir é a análise de mutações responsáveis pelo surgimento das HEDs. Como relatado no Capítulo 5, cerca de 150 mutações já foram descritas nos genes *EDI*, *EDAR* e *EDARADD*. A maioria delas (exceto 8 mutações em *EDI* que causam hipodontia isolada) leva ao desenvolvimento das HED autossômicas (genes *EDAR* e *EDARADD*) ou ligada ao cromossomo X (*EDI*).

O tipo ou a localização das mutações detectadas no gene *EDI* não parecem estar relacionados à gravidade de manifestação da XLHED. Por outro lado, apesar de as mutações detectadas no gene *EDAR* não estarem relacionadas com a gravidade de manifestação da DE, parece haver uma relação entre o exon (ou de seu domínio correspondente) e o padrão de herança da HED. Enquanto que as mutações no exon 12 do gene *EDAR* são responsáveis pelo padrão autossômico dominante de herança, mutações nos demais exons parecem levar a um modo autossômico recessivo de transmissão.

Apenas duas mutações relacionadas com o fenótipo HED foram detectadas, até o momento, no gene autossômico *EDARADD*, uma de herança recessiva e outra, dominante. Pela sua baixa incidência e devido à sua proximidade espacial, não se pode



afirmar que exista uma relação genótipo-fenótipo dessas mutações em relação ao surgimento da HED, bem como de seu modo de herança, recessivo ou dominante.

A adaptação do banco de dados informatizado e sua nova disponibilização na rede internacional de computadores representa um grande avanço na oferta de informações atualizadas acerca das DEs. Isto ocorre tanto pela nova veiculação das informações coletadas pelo trabalho de Lisboa-Costa (2001), agora atualizadas, como pela maneira fácil de navegação pelo *site* [www.displasias.ufpr.br](http://www.displasias.ufpr.br). Através deste instrumento é possível obter informações sobre as 186 DEs pertencentes ao grupo A. Com a aplicação dos chamados “filtros clínicos” é possível, através da resposta a questões propostas, chegar a um diagnóstico clínico de uma DE. Sobre este quesito, algumas considerações devem ser feitas.

O diagnóstico das DEs é baseado, como já foi relatado anteriormente, na observação clínica do indivíduo afetado, que pode ser influenciada pela capacidade ou atenção do averiguador. Por este motivo, e também pela possibilidade de haver expressão variável de uma mesma afecção entre diversos afetados, a ocorrência de um falso diagnóstico não pode ser descartada. Por isso, sugere-se cautela ao usuário do *site*, cujo diagnóstico deve ser confirmado por um corpo clínico especializado. Este fato não compromete, absolutamente, as finalidades desse instrumento, uma vez que sua maior finalidade é disponibilizar informações úteis e atualizadas ao usuário da rede de computadores, seja ele um profissional de saúde, um paciente ou seu familiar ou mesmo uma pessoa leiga interessada em aprofundar seus conhecimentos sobre as displasias ectodérmicas.

## 7 CONCLUSÕES GERAIS

A existência de uma definição clara, objetiva e bem delineada acerca de o que é uma displasia ectodérmica é de grande importância para o estudo desse grupo nosológico. É a partir da definição que se pode sugerir um método de classificação e, portanto, quanto melhor a definição, melhor será a classificação das displasias ectodérmicas.

A definição clínica, e a classificação dela consequente, proposta por Freire-Maia (1971; 1977) ainda é atual e bastante relevante, pois proporciona critérios simples e de fácil observação para a identificação de uma determinada displasia ectodérmica. Novas definições e classificações, baseadas principalmente em critérios moleculares estão sendo propostas. Essas propostas trazem um avanço sobre o conhecimento das DEs e, justamente por isso, não devem ser menosprezadas. O presente trabalho sugere a coexistência de ambas as classificações, uma baseada em dados clínicos e outra, em aspectos moleculares.

Quanto maior for o conhecimento sobre as DEs no que se refere à etiologia, ao padrão de herança, às características clínicas e outras informações relevantes, melhor será o atendimento clínico, o diagnóstico e o aconselhamento genético às famílias com pacientes acometidos por essas afecções. Se a essas informações forem somadas as recentes descobertas ao nível do gene, ou de seu produto, maiores serão as possibilidades de desenvolvimento de métodos eficazes de detecção, prevenção e tratamento das DEs.

A remodelação do antigo site de displasias ectodérmicas permitiu que a sua nova versão fosse hospedada no servidor da UFPR, no endereço eletrônico <http://www.displasias.ufpr.br>. Acredita-se que essa ferramenta informatizada será útil a pesquisadores, profissionais da área da saúde e aos portadores de DE e seus familiares.

A revisão das mutações relacionadas com a manifestação do fenótipo XLHED, ARHED e ADHED permitiu relacionar 123 mutações no gene *ED1*, 24 no gene *EDAR* e duas no gene *EDARADD*. O tipo de mutação, ou a sua posição nesses genes, não parece estar relacionado com a gravidade de manifestação dessas três DEs. Mutações nos genes *EDAR* e *EDARADD* podem ocasionar ambas as formas, dominante e recessiva, de HED autossômicas.

Uma transversão e uma inserção ainda não descritas na literatura foram detectadas no gene *ED1*. Essas mutações são compatíveis com a manifestação da XLHED em duas das famílias analisadas.

## REFERÊNCIAS

- ADACHI, N.; LIEBER, M. R. Bidirectional gene organization: a common architectural feature of the human genome. **Cell**, v. 109, p. 807-809, 2002.
- AKHYANI, M.; KIAVASH, K. Ectodermal dysplasia with alopecia, onychodysplasia, hypohidrosis, keratoderma, abnormal teeth and deafness. **Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.**, v. 73, p. 409-411, 2007.
- ANGELOS, G.; JORGENSON, R. J. Trichodysplasia and amelogenesis imperfecta. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 75, p. 86-89, 1993.
- ANTLEY, R. M.; SHIELDS, E. D.; ROSENBERG, G. L.; BIXLER, D. Hypohidrosis with sparse hair, short stature and normal teeth and nails. **Birth Defects Orig Artic Ser.**, v. 12, p. 136, 1976.
- AOKI, N.; ITO, K.; TACHIBANA, T.; ITO, M. A novel arginine → serine mutation in *EDAI* in a Japanese family with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia. **J. Invest. Dermatol.**, v. 115, n. 2, p. 329-330, 2000.
- BAL, E.; BAALA, L.; CLUZEAU, C.; EL KERCH, F.; OULDIM, K.; HADJ-RABIA, S.; BODEMER, C.; MUNNICH, A.; COURTOIS, G.; SEFIANI, A.; SMAHI, A. Autosomal dominant anhidrotic ectodermal dysplasias at the EDARADD locus. **Hum. Mutat.**, v. 28, p. 703-709, 2007.
- BARTSTRA, H.L.J.; HULSMANS, R.F.H.J.; STEIJLEN, P.M.; RUIGE, M.; DIE-SMULDERS, C.E.M.; CASSIMAN, J.J. Mosaic expression of hypohidrotic ectodermal dysplasia in an affected female child. **Arch. Dermatol.**, v. 130, p. 1421-1424, 1994.
- BAYÉS, M.; HARTUNG, A.J.; EZER, S.; PISPA, J.; THESLEFF, I.; SRIVASTAVA, A.K.; KERE, J. The anhidrotic ectodermal dysplasia gene (EDA) undergoes alternative splicing and encodes ectodysplasin-A with deletion mutations in collagenous repeats. **Hum. Mol. Genet.**, v. 7, n. 11, p. 1661-1669, 1998.
- BEARE, J. M. Congenital capilar defect showing features of pili torti. **Br. J. Dermatol.**, v. 64, p. 366-372, 1952.
- BEEMER, F. A.; BRUYNZELL-KOOMEN, C.; HAPPLE, R. Two cases of hypotrichosis with pili bifurcati. **Am. J. Med. Genet.**, v. 4, p. 187-188, 1987.
- BEYER, P.; GROSSHANS, E.; VETTER, J. M.; FREYSZ, H.; WEITZENBLUM, S.; BOUCHARD, M. Forme inhabituelle de dysplasie ectodermique hypohidrotique avec des glandes sudoripares em nombre apparemment normal, mais dysplasiques et des anomalies morphologiques de la peau. **Pediatric**, v. 34, p. 341-349, 1979.
- BHASKAR, S.N. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 10 ed. São Paulo: Artes Médicas, 1989.

BONORA, G.; CELLMETTI, C.; ACERBI, L.; CASE, L.; LUCIANI, L. Displasia ectodermica ipoidrotica (DEA) nel sesso femminile. **Minerva Pediatr.**, v. 33, p. 911-916, 1981.

BRUNNER, H. G.; HAMEL, B. C. J.; VAN BOKHOVEN, H. *P63* gene mutations and human developmental syndromes. **Am. J. Med. Genet.**, v.112, p. 284-290, 2002.

BRUNONI, D. Mesomelic dwarfism, skeletal abnormalities, and ectodermal dysplasia. **Clin. Dysmorphol.**, v.2, p. 14-18, 1984.

CALZAVARA-PINTON, P.; CARLINO, A.; BENETTI, A.; DE PANFILIS, G. Pili torti and onychodysplasia. Report of previously undescribed hidrotic ectodermal dysplasia. **Dermatology**, v. 182, p. 184-187, 1991.

CASAL, M. L.; LEWIS, J. R.; MAULDIN, E. A.; TARDIVEL, A.; INGOLD, K.; FAVRE, M.; PARADIES, F.; DEMOTZ, S.; GAIDE, O.; SCHNEIDER, P. Significant correction of disease after postnatal administration of recombinant ectodysplasin A in canine X-linked ectodermal dysplasia. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 81, p. 1050-1056, 2007.

CHASSAING, N.; BOURTHOUMIEU, S.; COSSEE, M.; CALVAS, P.; VINCENT, M. C. Mutations in *EDAR* account for one-quarter of non-*EDI*-related hypohidrotic extodermal dysplasia. **Hum. Mutat.**, v. 27, p. 255-259, 2006.

CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; PRIMO-PARMO, S.L.; PINHEIRO, M.; FREIRE-MAIA, N. Further evidence against linkage between Christ-Siemens-Touraine (*CST*) and *XG* loci. **Hum. Genet.**, v. 57, p. 206, 1981.

CHEN, Y.; MOLLOY, S.S.; THOMAS, L.; GAMBEE, J.; BÄCHINGER, H.P.; FERGUSON, B.; ZONANA, J.; THOMAS, G.; MORRIS, N.P. Mutations within a furin consensus sequence block proteolytic release of ectodysplasin-A and cause X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 98, n. 13, p. 7218-7223, 2001.

CLARKE, A. Hypohidrotic ectodermal dysplasia. **J. Med. Genet.**, v. 24, p. 659-663, 1987.

CLARKE, A.; BURN, J. Sweat testing to identify female carriers of X linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **J. Med. Genet.**, v. 28, p. 330-333, 1991.

CLARKE, A.; SARFARAZI, M.; THOMAS, N.S.T.; ROBERTS, K.; HARPER, P.S. X-Linked hypohidrotic ectodermal dysplasia: DNA probe linkage analysis and gene localization. **Hum. Genet.**, v. 75, p. 378-380, 1987.

COLE, H. N.; GIFFEN, H. K.; SIMMONS, J. T.; STROUD, G. M. Congenital cataracts in sisters with congenital ectodermal dysplasia. **JAMA**, v. 129, p. 723-728, 1945.

CONTE, C.; GAMBARDELLA, S.; BULLI, C.; RINALDI, F.; MARINO, D.; FALCONI, M.; BRAMANTI, P.; DESIDERI, A.; NOVELLI, G. Screening of *EDA1* gene in X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia using DHPLC: identification of 14 novel mutations in Italian patients. **Genet. Test.**, v. 12, p. 437-442, 2008.

CORTES, F.; LACASSIE, Y. An unusual case of ectodermal dysplasia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 25, p. 289-291, 1986.

COSMAN, D. A family of ligands for the TNF receptor superfamily. **Stem Cells**, v. 12, p. 440-455, 1994.

CÔTÉ, G.B.; KATSANTONI, A. Osteosclerosis and ectodermal dysplasia. **Prog. Clin. Biol. Res.**, v. 104, p. 161-162, 1982.

CRAWFORD, P.J.M.; ALDRED, M.J.; CLARKE, A. Clinical and radiographic dental findings in X linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **J. Med. Genet.**, v. 28, p. 181-185, 1991.

CUI, C.Y.; DURMOWICZ, M.; TANAKA, T.S.; HARTUNG, A.J.; TEZUKA, T.; HASHIMOTO, K.; KO, M.S.; SRIVASTAVA, A.K.; SCHLESSINGER, D. EDA targets revealed by skin gene expression profiles of wild-type, Tabby and Tabby EDA-A1 transgenic mice. **Hum. Mol. Genet.**, v. 11, n. 15, p. 1763-1773, 2002.

DE LA CHAPELLE, A. The map of the human X chromosome. In: CROSIGNANI, P.G.; FRACCARO, M.; RUBIN, B.L. **Genetic control of gamete production and function**. New York: Gene & Stratton, 1982. p. 33-48.

DEN DUNNEN, J.T.; ANTONARAKIS, E. Nomenclature for the description of human sequence variations. **Hum. Genet.**, v. 109, p. 121-124, 2001.

EDWARDS, M.J.; MCDONALD, D.; MOORE, P.; RAE, J. Scalp-ear-nipple syndrome: additional manifestations. **Am. J. Med. Genet.**, v. 50, p. 247-250, 1994.

ELOMAA, O.; PULKKINEN, K.; HANNELIUS, KU.; MIKKOLA, M.; SAARIALHO-KERE, U.; KERE, J. Ectodysplasin is released by proteolytic shedding and binds to EDAR protein. **Hum. Mol. Genet.**, v. 10, n. 9, p. 953-962, 2001.

ERONEN, M.; SOMER, M.; GUSTAFSSON, B.; HOLMBERG, C. New syndrome: a digito-reno-cerebral syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 22, p. 281-285, 1985.

EZER, S.; BAYÉS, M.; ELOMAA, O.; SCHLESSINGER, D.; KERE, J. Ectodysplasin is a collagenous trimeric type II membrane protein with a tumor necrosis factor-like domain and co-localizes with cytoskeletal structures at lateral and apical surfaces of cells. **Hum. Mol. Genet.**, v. 8, p. 2079-2086, 1999.

EZER, S.; SCHLESSINGER, D.; SRIVASTAVA, A.; KERE, J. Anhidrotic ectodermal dysplasia (EDA) protein expressed in MCF-7 cells associates with cell membrane and induces rounding. **Hum. Mol. Genet.**, v. 6, n. 9, p. 1581-1587, 1997.

FAN, H.; YE, X.; SHI, L.; YIN, W.; HUA, B.; SONG, G.; SHI, B.; BIAN, Z. Mutations in the EDA gene are responsible for X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia and hypodontia in Chinese kindreds. **Eur. J. Oral. Sci.**, v. 116, p. 412-417, 2008.

FÁRA, M. Regional ectodermal dysplasia with total bilateral cleft. **Acta. Chir. Plast.**, v. 13, 100-105, 1971.

FERGUSON, B.M.; BROCKDORFF, N.; FORMSTONE, E.; NGYUEN, T.; KRONMILLER, J.E.; ZONANA, J. Cloning of Tabby, the murine homolog of the human EDA gene: evidence for a membrane-associated protein with a short collagenous domain. **Hum. Mol. Genet.**, v. 6, n. 9, p. 1589-1594, 1997.

FERGUSON, B.M.; THOMAS, N.S.T.; MUNOZ, F.; MORGAN, D.; CLARKE, A.; ZONANA, J. Scarcity of mutations detected in families with X linked hypohidrotic ectodermal dysplasia: diagnostic implications. **J. Med. Genet.**, v. 35, p. 112-115, 1998.

FILIPPI, G.; RINALDI, A.; CRISPONE, G.L.L SINISCALCO, M. X mapping in man: evidence against measurable linkage between anhidrotic ectodermal dysplasia and G6PD deficiency. **J. Med. Genet.**, v. 16, p. 223-224, 1979.

FISCHER, H. Familiar hereditäres Vorkommen von Keratoma palmare et plantare, Nagelveränderungen, Haaranomalien und Verdickung der Endglieder der Finger und Zehen in 5 Generationen. (Die Beziehungen dieser Veränderungen zur inneren Sekretion). **Dermatol. Zeitschr.**, v. 32, p. 114-142, 1921.

FREIHOFFER, H.P.; WALJI, S.; BRUNNER, H. G. Ectodermal dysplasia, cleft lip/palate, and severe cutaneous and osseous syndactyly in a mentally retarded girl: a new multiple malformation syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 70, p. 211-215, 1997.

FREIRE-MAIA, N. Ectodermal dysplasias. **Hum. Hered.**, v. 21, p. 309-312, 1971.

\_\_\_\_\_. Ectodermal dysplasias revisited. **Acta Genet. Med. Gemellol.**, v. 26, p. 121-131, 1977.

\_\_\_\_\_. **Displasias ectodérmicas**: o que são, suas causas, como conviver com elas, onde procurar aconselhamento genético. Curitiba: Gráfica Mileart, 1998.

FREIRE-MAIA, N.; CAT, I.; RAPONE-GAIDZINSKI, R. An ectodermal dysplasia syndrome of alopecia, onychodysplasia, hypohidrosis, hyperkeratosis, deafness and other manifestations. **Hum. Hered.**, v. 27, p. 127-133, 1977.

FREIRE-MAIA, N.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Dry skin extranumerary areolae. **Am. J. Med. Genet.**, v. 35, p. 141, 1990.

FREIRE-MAIA, N.; FORTES, V. A.; PEREIRA, L. C.; OPITZ, J. M.; MARÇALLO, F.A.; CAVALLI, I.J. A syndrome of hypohidrotic ectodermal dysplasia with normal teeth, peculiar facies, pigmentary disturbances, psychomotor and growth retardation, bilateral nuclear cataract, and other signs. **J. Med. Genet.**, v.12, p. 308-310, 1975.

FREIRE-MAIA, N.; LISBOA-COSTA, T.; PAGNAN, N.A.B. Ectodermal dysplasias: how many? **Am. J. Med. Genet.**, v. 104, n. 1, p. 84, 2001.

FREIRE-MAIA, N.; PINHEIRO, M. Carrier detection in Christ-Siemens-Touraine syndrome (X-Linked hypohidrotic ectodermal dysplasia). **Am. J. Hum. Genet.**, v. 34, p. 672-674, 1982.

\_\_\_\_\_. **Ectodermal dysplasias: a clinical and genetic study.** New York: Alan R. Liss Inc, 1984.

\_\_\_\_\_. Ectodermal dysplasias – a review of the conditions described after 1984 with an overall analysis of all the conditions belonging to this nosologic group. **Rev. Brasil. Genet.**, v. 10, p. 403-414, 1987.

\_\_\_\_\_. Ectodermal dysplasias – Some recollections and a classification. In: SALINAS C. F.; OPITZ, J. M.; PAUL, N. W. (eds) **Recent advances in ectodermal dysplasias.** New York: Alan R. Liss, p. 3-14. 1988.

\_\_\_\_\_. Precocious mortality in Christ-Siemens-Touraine syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 37, p. 299, 1990.

FREIRE-MAIA, N.; PINHEIRO, M.; FERNANDES-DOS-SANTOS, A. Trichoonychodysplasia with xeroderma, an apparently hitherto undescribed pure ectodermal dysplasia. **Braz. J. Genet.**, v. 8, p. 775-778, 1985.

FRIED, K. Autosomal recessive hydrotic ectodermal dysplasia. **J. Med. Genet.**, v. 14, p. 137-139, 1977.

GAIDE, O.; SCHNEIDER, P. Permanent correction of an inherited ectodermal dysplasia with recombinant EDA. **Nature Med.**, v. 9, p. 614-618, 2003.

GILGENKRANTZ, S.; BLANCHET-BARDON, C.; NAZZARO, V.; FORMIGA, L.; MUJICA, P.; ALEMBIK, Y. Hypohidrotic ectodermal dysplasia - clinical study of a family of 30 over three generations. **Hum. Genet.**, v. 81, p. 120-122, 1989.

GORLIN, R. J. Selected ectodermal dysplasias. In: SALINAS C. F.; OPITZ, J. M.; PAUL, N. W. **Recent advances in ectodermal dysplasias.** New York: Alan R. Liss, p. 123-148, 1988.

GORLIN, R. J.; OLD, T.; ANDERSON, V. E. Hypohidrotic ectodermal dysplasia in females. A critical analysis and argument for genetic heterogeneity. **Eur. J. Pediatr.** (Zeitschrift fuer Kinderheilkunde), v. 108, p. 1-11, 1970.

GORLIN, R. J.; PINDBORG, J. J.; COHEN JR, M. M. **Syndromes of the head and neck.** Nova Iorque: McGraw-Hill, 1976.

GREENSTEIN, M. A.; POOLE, A.; URBANSKI, M.; SAAL, H. M. Ectodermal dysplasia: a new form and consideration of possible associations. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 37, p. 56, 1985.

GYURE, K. A.; KURCZYNSKI, T. W.; GUNNING, W.; FRENCH, B. N. Autosomal recessive neurodegenerative disorder with trichorrhesis invaginata and ectodermal dysplasia. **Pediatr. Neurol.**, v. 8, p. 469-472, 1992.



HALAL, F.; SETTON, N.; WANG, N. S. A distinct type of hidrotic ectodermal dysplasia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 38, p. 552-556, 1991.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp. Ser.** v. 41, p.95-98, 1999.

HAN, D.; GONG, Y.; WU, H.; ZHANG, X.; YAN, M.; WANG, X.; QU, H.; FENG, H.; SONG, S. Novel EDA mutation resulting in X-linked non-syndromic hypodontia and the pattern of EDA-associated isolated tooth agenesis, **Eur. J. Med. Genet.**, v. 51, p. 536-546, 2008.

HANAUER, A.; ALEMBIK, Y.; ARVEILER, B.; FORMIGA, L.; GILGENKRANTZ, S.; MANDEL, J.L. Genetic mapping of hypohidrotic ectodermal dysplasia: linkage to DXS159 and DXYS1. **Cytogenet. Cell. Genet.**, v. 46, p. 426, 1987.

\_\_\_\_\_. Genetic mapping of anhidrotic ectodermal dysplasia: DXS159, a closely linked proximal marker. **Hum. Genet.**, v. 80, p. 177-180, 1988.

HARRISON, S.; SINCLAIR, R. Hypotrichosis and nail dysplasia: a novel hidrotic ectodermal dysplasia. **Australas. J. Dermatol.**, v. 45, p. 103-105, 2004.

HASHIGUCHI, T.; YOTSUMOTO, S.; KANZAKI, T. Mutations in the *EDI* gene in Japanese families with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Exp. Dermatol.**, v. 12, p. 518-522, 2003.

HEADON, D.J.; EMMAL, S.A.; FERGUSON, B.M.; TUCKER, A.S.; JUSTICE, M.J.; SHARPE, P.T.; ZONANA, J.; OVERBEEK, P.A. Gene defect in ectodermal dysplasia implicates a death domain adapter in development. **Nature**, v. 414, p. 913-916, 2001.

HEADON, D.J.; OVERBEEK, P.A. Involvement of a novel TNF receptor homologue in hair follicle induction. **Nat. Genet.**, v. 22, p. 370-374, 1999.

HERTZ, J.M.; NORGAARD, H.K.; JUNCKER, I.; KJELDSEN, M.; GREGERSEN, N. A novel missense mutation (402C→T) in exon 1 in the EDA gene in a family with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Clin. Genet.**, v. 53, p. 205-209, 1998.

HIZLI, S.; ÖZDEMİR, S.; BAKKALOGLU, A. Anhidrotic ectodermal dysplasia (Christ-Siemens-Touraine syndrome) presenting as a fever of unknown origin in an infant. **Int. J. Dermatol.**, v. 37, p. 132-134, 1998.

HO, L.; WILLIAMS, M.S.; SPRITZ, R.A. A gene for autosomal dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia (*EDA3*) maps to chromosome 2q11-q13. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 62, p. 1102-1106, 1998.

HUANG, C.; YANG, Q.; KE, T.; WANG, H.; WANG, X.; SHEN, J.; TU, X.; TIAN, J.; LIU, J. Y.; WANG, Q. K.; LIU, M. A novel de novo frame-shift mutation of the EDA gene in a Chinese Han family with hypohidrotic ectodermal dysplasia. **J. Hum. Genet.**, v. 51, p. 1133-1137, 2006.

HSU, M. M. L.; CHÃO, S. C.; LU, A. C. H. A novel missense mutation (Gln306His) in exon 7 of the ED1 gene causing anhidrotic ectodermal dysplasia with prominent milia-like facial sebaceous papules. **Br. J. Dermatol.**, v. 149, p. 419–446, 2003.

IRVINE, A. D. Ectodermal dysplasias. In: HARPER, J. I.; ORANJE, O. P.; PROSE, N. **Pediatric dermatology**, 2ed. Oxford: Blackwell Scientific, 2005. p. 1412-1466.

ITIN, P. H.; FISTAROL, S. K. Ectodermal dysplasias. **Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.** v. 131C, p. 45-51, 2004.

ITTHAGARUN, A.; KING, N. M. Oral rehabilitation of a hypohidrotic ectodermal dysplasia patient: a 6-year follow-up. **Quintessence Int.**, v. 31, n. 9, p. 642-648, 2000.

JORGENSEN, R. J. Gingival fibromatosis. **Birth Defects Orig. Artic. Ser.**, v. 7, p. 278-280, 1971.

JORGENSEN, R. J.; DOWBEN, J. S.; DOWBEN, S. L. Autosomal dominant ectodermal dysplasia. **J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.** v. 7, p. 403-412, 1987.

KABBAJ, K.; BAALA, L.; CHHOUL, H.; SEFIANI, A. Autosomal recessive anhidrotic ectodermal dysplasia in a large Moroccan family. **J. Med. Genet.** v.35, p. 1042-1044, 1998.

KAERCHER, T. Ocular symptoms and signs in patients with ectodermal dysplasia syndromes. **Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.**, v. 242, p. 495-500, 2004.

KAPLAN, P.; KRANTZ, I.; MASCARENHAS, M.; TUNNESSEN, W.; SCHULMAN, S. Evidence that the Setleis and Brauer syndromes of focal dermal hypoplasia are the same entity. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 57, p. A93, 1995.

KERE, J.; SRIVASTAVA, A.K.; MONTONEN, O.; ZONANA, J.; THOMAS, N.; FERGUSON, B.; MUNOZ, F.; MORGAN, D.; CLARKE, A.; BAYBAYAN, P.; CHEN, E.Y.; EZER, S.; SAARIALHO-KERE, U.; DE LA CHAPELLE, A.; SCHLESSINGER, D. X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. **Nat. Genet.**, v. 13, p. 409-416, 1996.

KIRMAN, B.H. Idiocy and ectodermal dysplasia. **Br. J. Dermatol.**, v. 67, p. 303-307, 1955.

KOBIELAK, K.; KOBIELAK, A.; ROSZKIEWICZ, J.; WIERZBA, J.; LIMON, J.; TRZECIAK, W.H. Mutations in the EDA gene in three unrelated families reveal no apparent correlation between phenotype and genotype in the patients with an X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 100, n. 3, p. 191-197, 2001.

KOJIMA, T.; MORIKAWA, Y.; COPELAND, N.G.; GILBERT, D.J.; JENKINS, N.A.; SENBA, E.; KITAMURA, T. TROY, a newly identified member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, exhibits a homology with edar and is expressed in embryonic skin and hair follicles. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 27, p. 20742-20747, 2000.

KOSHIBA, H.; KIMURA, O.; NAKATA, M.; WITKOP, J. R. C. J. Clinical, genetic, and histologic features of the trichonychodontal [TOD] syndrome. **Oral Surg.**, v. 46, p. 376-385, 1978.

KRUSE, T.A.; KOLVRAA, S.; BOLUND, L.; KAITILA, I.; SODERHOLM, A.L.; DE LA CHAPELLE, A.; MACDERMOT, K.D. X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia (EDA): multipoint linkage analysis. **Cytogenet. Cell Genet.**, v. 51, p. 1026, 1989.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Brief. Bioinform.**, 5:150-163, 2004.

KUPIETZKY, A.; HOUP, M. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: characteristics and treatment. **Quintessence Int.**, v. 26, n. 4, p. 285-291, 1995.

LAHIRI, D.K.; NURNBERGER Jr, J.I. A rapid nonenzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Res.**, v. 19, p. 5444, 1991.

LAMARTINE, J. Towards a new classification of ectodermal dysplasias. **Clin. Exp. Dermatol.**, v. 28, p. 351-355, 2003.

LAURIKKALA, J.; MIKKOLA, M.; MUSTONEN, T.; ABERG, T.; KOPPINEN, P.; PISPA, J.; NIEMINEN, P.; GALCERAN, J.; GROSSCHEDL, R.; THESLEFF, I. TNF signaling via the ligand-receptor pair ectodysplasin and edar controls the function of epithelial signaling center and is regulated by Wnt and activin during tooth organogenesis. **Dev. Biol.**, v. 229, p. 443-455, 2001.

LENZ, W. **Medical genetics**. Chicago: Univ Chicago Press. 1963.

LEXNER, M. O.; BARDOW, A.; JUNCKER, I.; JENSEN, L. G.; ALMER, L.; KREIBORG, S.; HERTZ, J. M. X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. Genetic and dental findings in 67 Danish patients from 19 families. **Clin. Genet.**, v. 2008, p. 74, p. 252-259, 2008.

LI, S.; LI, J.; CHENG, J.; ZHOU, B.; TONG, X.; DONG, X.; WANG, Z.; HU, Q.; CHEN, M.; HUA, Z. C. Non-syndromic tooth agenesis in two Chinese families associated with novel missense mutations in the TNF domain of EDA (ectodysplasin A). **PLoS ONE**, v. 3, p. e2396, 2008.

LIN, T. K.; HUANG, C. Y.; LIN, M. H.; CHÃO, S. C. A novel 7-bp deletion mutation in a Taiwanese family with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Clin. Exp. Dermatol.**, v. 29, p. 536-538, 2004.

LIND, L.K.; STECKSÉN-BLOCKS, C.; LEJON, K.; SCHMITT-EGENOLF, M. EDAR mutation in autosomal dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia in two Swedish families. **BMC Med. Genet.**, v. 7, p. 80, 2006. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2350/7/80>>. Acesso em: 11/12/2008.

LIPSON, M. A new type of ectodermal dysplasia associated with skeletal and cardiac abnormalities. **Am. J. Med. Genet.**, v. 31(S4), p. 200, 1988.

LISBOA-COSTA, T. **Displasias ectodérmicas do grupo A**: elaboração de um banco de dados informatizado para auxílio ao diagnóstico genético-clínico. Curitiba, 2001. 245 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

LOCKSLEY, R.M.; KILLEEN, N.; LENARDO, M.J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. **Cell**, v. 104, p. 487-501, 2001.

LOPES, V.L.; MARQUES-DE-FARIA, A. P. Mental retardation, hypotrichosis and syndactyly: a new entity? **Genet. Couns.**, v. 7, p. 47-51, 1996.

LYNGSTADAAS, S. P.; NORDBO, H.; GEDDE-DAHL, T.; THRANE, P. S. On the genetics of hypodontia and microdontia: synergism or allelism of major genes in a family with six affected members. **Am. J. Med. Genet.**, v. 33, p. 137-142, 1996.

MACDERMOT, K.D.; HULTEN, M. Female with hypohidrotic ectodermal dysplasia and de novo (X;9) translocation: clinical documentation of the AnLy cell line case. **Hum. Genet.**, v. 84, p. 577-579, 1990.

MACDERMOT, K.D.; WINTER, R.M.; MALCOLM, S. Gene localization of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia (C-S-T syndrome). **Hum. Genet.**, v. 74, p. 172-173, 1986.

MARSHALL, R. E.; GRAHAM, C. B.; SCOTT, C. R.; SMITH, D. W. Syndrome of accelerated skeletal maturation and relative failure to thrive: a newly recognized clinical growth disorder. **J. Pediatr.**, v. 78, p. 95-101, 1971.

MARTÍNEZ, B. R.; MONASTERIO, L. A.; PINHEIRO, M.; FREIRE-MAIA, N. Cleft lip/palate-oligodontia-syndactyly-hair alterations, a new syndrome: review of the conditions combining ectodermal dysplasia and cleft lip/palate. **Am. J. Med. Genet.**, v. 27, p. 23-31, 1987.

MARTÍNEZ, F.; MILLÁN, J.M.; ORELLANA, C.; PIETRO, F. X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia caused by a novel mutation in EDA1 gene: 406T→G (Leu55Arg). **J. Invest. Dermat.**, v. 13, n. 2, p. 285-288, 1999.

MARTINO, F.; D'EUFEMIA, P.; PERGOLA, M. S.; FINOCCHIARO, R.; CELLI, M.; GIAMPA, G.; FRONTALI, M.; GIARDINI, O. Child with manifestations of dermatrichic syndrome and ichthyosis follicularis-alopecia-photophobia (IFAP) syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 44, p. 233-236, 1992.

MASUNO, M.; IMAIZUMI, K.; MAKITA, Y.; NAKAMURA, M.; KUROKI, Y. Autosomal dominant inheritance in Setleis syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 57, p. 57-60, 1995.

MÉGARBANÉ, H.; CLUZEAU, C.; BODEMER, C.; FRAÏTAG, S.; CHABABI-ATALLAH, M.; MÉGARBANÉ, A.; SMAHI, A. Unusual presentation of a severe autosomal recessive anhidrotic ectodermal dysplasia with a novel mutation in the *EDAR* gene. **Am. J. Med. Genet.**, v. 146A, p. 2657-2662, 2008.

MENDES, R. D. Inteligência artificial: sistemas especialistas no gerenciamento da informação. **Ci. Inf.**, v. 26, 1997. Disponível em: <  
[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-19651997000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-19651997000100006&script=sci_arttext)>.  
 Acesso em: 14/12/2008.

MIKKOLA, M.L.; PISPA, J.; PEKKANEN, M.; PAULIN, L.; NIEMINEN, P.; KERE, J.; THESLEFF, I. Ectodisplasin, a protein required for epithelial morphogenesis, is a novel TNF homologue and promotes cell-matrix adhesion. **Mech. Dev.**, v. 88, p. 133-146, 1999.

MONREAL, A.W.; FERGUSON, B.M.; HEADON, D.J.; STREET, S.L.; OVERBEEK, P.A.; ZONANA, J. Mutations in the human homologue of mouse *dl* cause autosomal recessive and dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Nat. Genet.**, v. 22, p. 366-369, 1999.

MONREAL, A.W.; ZONANA, J.; FERGUSON, B. Identification of a new splice form of the EDA1 gene permits detection of nearly all X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia mutations. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 63, p. 380-389, 1998.

MONTEBELO, A. F.; FREIRE, A. R. S.; PINHEIRO, M.; FREIRE-MAIA, N. Odonto-ungueal dysplasia: an apparently new autosomal dominant ectodermal dysplasia. **Braz. J. Genet.**, v. 19 (3) suppl., p. 162, 1996.

MONTONEN, O.; EZER, S.; SAARILHO-KERE, U.K.; HERVA, R.; KARJALAINEN-LINDSBERG, M.L.; KAITILA, I.; SCHLESSINGER, D.; SRIVASTAVA, A.K.; THESLEFF, I.; KERE, J. The gene defective in anhidrotic ectodermal dysplasia is expressed in the developing epithelium, neuroectoderm, thymus, and bone. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 46, n. 3, p. 281-289, 1998.

MOYNAHAN, E. J. XTE syndrome (xeroderma, talipes and enamel defect): a new hereditary familial syndrome. **Proc. R. Soc. Med.**, v. 63, p. 1-2, 1970.

MUNOZ, F.; LESTRINGANT, G.; SYBERT, V.; FRYDMAN, M.; ALSWAINI, A.; FROSSARD, P.M.; JORGENSEN, R.; ZONANA, J. Definitive evidence for an autosomal recessive form of hypohidrotic ectodermal dysplasia clinically indistinguishable from the more common X-linked disorder. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 61, p. 94-100, 1997.

NAEEM, M.; MUHAMMAD, D.; AHMAD, W. Novel mutations in the *EDAR* gene in two Pakistani consanguineous families with autosomal recessive hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Br. J. Dermatol.**, v. 153, p. 46-50, 2005.

NAKAMURA, N.; ISHIKAWA, O. A patient with alopecia, nail dystrophy, palmoplantar hyperkeratosis, keratitis, hearing difficulty and micrognathia without GJB2 or GJB6 mutations: a new type of hidrotic ectodermal dysplasia? **Br. J. Dermatol.**, v. 156, p. 748-791, 2007.

NAKATA, M.; KOSHIBA, H.; KAZUHIRO, E.; NANCE, W. E. A genetic study of anodontia in X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 32, p. 908-919, 1980.

NAKAYAMA, K. Furin: a mammalian subtilisin/Kex2p-like endoprotease involved in processing of a wide variety of precursor proteins. **Biochem. J.**, v. 327, p. 625-635, 1997.

NISHIMURA, G.; HARIGAYA, A.; KUWASHIMA, M.; KUWASHIMA, S. Craniotubular dysplasia with severe postnatal growth retardation, mental retardation, ectodermal dysplasia, and loose skin: Lenz-Majewski-like syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 71, p. 87-92, 1997.

ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MAN, OMIM. Baltimore: McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>. Acesso em: 18/12/2008.

PÄÄKKÖNEN, K.; CAMBIAGHI, S.; NOVELLI, G.; OUZTS, L.V.; PENTTINEN, M.; KERE, J.; SRIVASTAVA, A.K. The mutation spectrum of the EDA gene in X-linked ectodermal dysplasia. **Hum. Mut.**, v. 17, n. 4, p. 349, 2001.

PARKER, M.J.; GROGGINS, R.C.; REES, P.G.; YOUNG, I. D. Distal arthrogyrosis, ectodermal dysplasia and dilated cardiomyopathy – a new syndrome? **Clin. Dysmorph.**, v. 7, p. 205-280, 1998.

PASSARGE, E.; NUZUM, C.T.; SCHUBERT, W.K. Anhidrotic ectodermal dysplasia as autosomal recessive trait in an inbred kindred. **Humangenetik**, v. 3, p. 181-185, 1966.

PINHEIRO, M.; FREIRE-MAIA, D. V.; MIRANDA, E.; SILVA-FILHO, O. G.; FREIRE-MAIA, N. Trichodermodyplasia with dental alterations: an apparently new genetic ectodermal dysplasia of the tricho-odonto-onychial subgroup. **Clin. Genet.**, v. 29, p. 332-336, 1986.

PINHEIRO, M.; FREIRE-MAIA, N. Christ-Siemens-Touraine syndrome - a clinical and genetic analysis of a large Brazilian kindred: I. Affected females. II. Affected males. III. Carrier detection. **Am. J. Med. Genet.**, v. 4, p. 113-134, 1979.

\_\_\_\_\_. Odonto-onicodisplasia com alopecia: Dois casos em uma irmandade. **Ciênc. Cult.**, v. 33(supl), p. 696, 1981.

\_\_\_\_\_. Displasias ectodérmicas. **Ciência Hoje**, v. 13, p. 56-62, 1991.

\_\_\_\_\_. Hair-nail dysplasia - a new pure autosomal dominant ectodermal dysplasia. **Clin. Genet.**, v. 41, p. 296-298, 1992.

\_\_\_\_\_. Ectodermal dysplasias: a clinical classification and a causal review. **Am. J. Med. Genet.**, v. 53, p. 153-162, 1994.

\_\_\_\_\_. Ectodermal dysplasias. In: HARPER, J. (ed). **Inherited skin disorders: the genodermatoses**. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1996a. p. 126-144.

\_\_\_\_\_. Odonto-ungueal dysplasia: an apparently new autossomal dominant ectodermal dysplasia. **Braz. J. Genet.**, v. 19, p. 633-636, 1996b.

PINHEIRO, M.; IDERIHA, M.T.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; FREIRE-MAIA, N.; PRIMO-PARMO, S. Christ-Siemens-Touraine syndrome. Investigations on two large Brazilian kindreds with a new estimate of the manifestation rate among carriers. **Hum. Genet.**, v. 57, p. 428-431, 1981.

PINHEIRO, M.; PEREIRA, L. C.; FREIRE-MAIA, N. A previously undescribed condition: tricho-odonto-onycho-dermal syndrome. A review of the tricho-odonto-onychial subgroup of ectodermal dysplasias. **Br. J. Dermatol.**, v. 105, p. 371-382, 1981.

PLATZER, M.; ROTMAN, G.; BAUER, D.; UZIEL, T.; SAVITSKY, K.; BAR-SHIRA, A.; GILAD, S.; SHILOH, Y.; ROSENTHAL, A. Ataxia-telangiectasia locus: sequence analysis of 184 kb of human genomic DNA containing the entire ATM gene. **Genome Res.**, v. 7, p. 592-605, 1997.

PRIOLO, M.; LAGANÀ, C. Ectodermal dysplasias: a new clinical-genetic classification. **J. Med. Genet.**, v. 38, p. 579-585, 2001.

PRIOLO, M.; SILENGO, M.; LERONE, M.; RAVAZZOLO, R. Ectodermal dysplasias: not only 'skin' deep. **Clin. Genet.**, v. 58, p. 415-430, 2000.

RACE, R.R.; SANGER, R. **Blood groups in man**. 6. ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1975.

RAFIQ, M.A.; FAIYAZ-UL-HAQUE, M.; AMIN, UD. DIN. M.; MALIK, S.; SOHAIL, M.; ANWAR, M.; HAQUE, S.; PATERSON, A. D.; TSUI, L. C.; AHMAD, W. A novel locus of ectodermal dysplasia maps to chromosome 10q24.32-q25.1. **J. Invest. Dermatol.**, v. 124, p. 338-342, 2005.

RAMADEVI, A. R.; REDDY, E. C.; RANJAN, S.; BASHYAM, M. D. Molecular genetic analysis of patients from India with hypohidrotic ectodermal dysplasia reveals novel mutations in the EDA and EDAR genes. **Br. J. Dermatol.**, v. 158, p. 163-167, 2008.

RASSOL, M.; SCHUSTER, J.; ASLAN, M.; TARIQ, M.; AHMAD, I.; ALI, A.; ENTESARIAN, M.; DAHL, N.; BAIG, S. M. A novel missense mutation in the EDA gene associated with X-linked recessive isolated hypodontia. **J. Hum. Genet.**, v. 53, p. 894-898, 2008.

RICHERI-COSTA, A.; GUION-ALMEIDA, M. L.; FREIRE-MAIA, N.; PINHEIRO, M. Autosomal recessive cleft lip/palate, ectodermal dysplasia, and minor acral anomalies: report of a Brazilian family. **Am. J. Med. Genet.**, v. 44, p. 158-162, 1992.

ROBERTS, A.; ALLANSON, J.; JADICO, S. K.; KAVAMURA, M. I.; NOONAN, J.; OPITZ, J. M.; YOUNG, T. The cardiofaciocutaneous syndrome. **J. Med. Genet.**, v. 43, p. 833-842, 2006.

ROCCA, M.; SPADA, M. La displasia ectodermica anidrotica (DEA) o síndrome di Christ-Siemens-Touraine - contributo casistico. **Minerva Pediatr.**, v. 43, n. 7-8, p. 517-520, 1991.

RUIZ-PEREZ, V. L.; BLAIR, H. J.; RODRIGUES-ANDRES, M. E.; BLANCO, M. J.; WILSON, A.; LIU, Y. N.; MILES, C.; PETERS, H.; GOODSHIP, J. A. Evc is a positive

mediator of *Ihh*-regulated bone growth that localises at the base of chondrocyte cilia. **Development**, v. 134, p. 2903-2912, 2007.

RUIZ-PEREZ, V. L.; TOMPSON, S. W. J.; BLAIR, H. J.; ESPINOZA-VALDEZ, C.; LAPUNZINA, P.; SILVA, E. O.; HAMEL, B.; GIBBS, J. L.; YOUNG, I. D.; RIGHT, J.; GOODSHIP, A. Mutations in two nonhomologous genes in a head-to-head configuration cause Ellis-van Creveld syndrome. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 72, p. 728-732, 2003.

SAKSENA, S.S.; BIXLER, D. Facial morphometrics in the identification of gene carriers of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 35, p. 105-114, 1990.

ŠALAMON, T.; MILIČEVIČ, M. Über eine besondere Form der ektodermalen Dysplasie mit Hypohidrosis, Hypotrichosis, Hornhautveränderungen, Nagel-und anderen Anomalien bei einem Geschwisterpaar. **Arch. Klin. Exp. Dermatol.**, v. 220, p. 564-575, 1964.

SCHNEIDER, P.; STREET, S.L.; GAIDE, O.; HERTIG, S.; TARDIVEL, A.; TSCHOPP, J.; RUNKE, L.; ALEVIZOPOULOS, K.; FERGUSON, B.M.; ZONANA, J. Mutations leading to X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia affect three major functional domains in the tumor necrosis factor family member ectodysplasin-A. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 22, p. 18819-18827, 2001.

SEQUEIROS, J.; SACK, G. H. Linear skin atrophy, scarring alopecia, anonychia and tongue lesion: a "new" syndrome? **Am. J. Med. Genet.**, v. 21, p. 669-680, 1985.

SHAFFER, W. G.; HINE, M. K.; LEVY, B. M. **Tratado de patologia bucal**. 4. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. 837 p.

SHIMADA, T.; FUJII, H.; LIN, H. A 165-base pair sequence between the dihydrofolate reductase gene and the divergently transcribed upstream gene is sufficient for bidirectional transcriptional activity. **J. Biol. Chem.**, v. 264, p. 20171-20174, 1989.

SHIMOMURA, Y.; SATO, N.; MIYASHITA, A.; HASHIMOTO, T.; ITO, M.; KUWANOV, R. A rare case of hypohidrotic ectodermal dysplasia caused by compound heterozygous mutations in the *EDAR* gene. **J. Invest. Dermatol.**, v. 123, p. 649-655, 2004.

SMITH, R. A.; VARGERVIK, K.; KEARNS, G.; BOSCH, C.; KOUMJIAN, J. Placement of an endosseous implant in a growing child with ectodermal dysplasia. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 75, p. 669-673, 1993.

SRIVASTAVA, A.K.; MONTONEN, O.; SAARIALHO-KERE, U.; CHEN, E.; BAYBAYAN, P.; PISPA, J.; LIMON, J.; SCHLESSINGER, D.; KERE, J. Fine mapping of the *EDA* gene: a translocation breakpoint is associated with a CpG island that is transcribed. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 58, p. 126-132, 1996.

SRIVASTAVA, A.K.; PISPA, J.; HARTUNG, A.J.; DU, Y.; EZER, S.; JENKS, T.; SHIMADA, T.; PEKKANEN, M.; MIKKOLA, M.L.; KO, M.S.H.; THESLEFF, I.; KERE, J.; SCHLESSINGER, D. The Tabby Fnotype is caused by mutation in a mouse homologue of the *EDA* gene that reveals novel mouse and human exons and encodes a protein (ectodysplasin-A) with collagenous domains. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 94, p. 13069-13074, 1997.



STEIJLEN, P. M.; NEUMANN, H. A.; DER-KINDEREN, D.J.; SMEETS, D. F.; VAN DER KERKHOF, P.C.; HAPPLE, R. Congenital atrichia, palmoplantar hyperkeratosis, mental retardation, and early loss of teeth in four siblings: a new syndrome? **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 30, p. 893-898, 1994.

STEVENSON, A. C.; KERR, C. B. On the distributions of frequencies of mutation to genes determining harmful traits in man. **Mutat. Res.**, v. 4, p. 339-352, 1967.

TAJARA, E.H.; PINHEIRO, M.; FREIRE-MAIA, N. Pilodontoungular dysplasia with microcephaly: a new ectodermal dysplasia/malformation syndrome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 26, p. 153-156, 1987.

TAO, R.; JIN, B.; GUO, S. Z.; QING, W.; FENG, G. Y.; BROOKS, D. G.; LIU, L.; XU, J.; LI, T.; TAN, Y.; HE, L. A novel missense mutation of the EDA gene in a Mongolian family with congenital hypodontia. **J. Hum. Genet.**, v. 51, p. 498-502, 2005.

TAPE, M.W.; TYE, E. Ectodermal dysplasia: literature review and a case report. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 16, p. 524-529, 1995.

TARIQ, M.; CHISHTI, M. S.; ALI, G.; AHMAD, W. A novel locus for ectodermal dysplasia of hairs, nails and teeth type maps to chromosome 18q22.1-22.3. **Ann. Hum. Genet.**, v. 72 p. 19-25, 2008.

TARIQ, M.; WASIF, N.; AYUB, M.; AHMAD, W. A novel 4-bp insertion mutation in EDA1 gene in a Pakistani family with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Eur. J. Dermatol.**, v. 17, p. 209-212, 2007.

TARPEY, P.; PEMBERTON, T. J.; STOCKTON, D. W.; DAS, P.; NINIS, V.; EDKINS, S.; FUTREAL, P. A.; WOOSTER, R.; KAMATH, S.; NAYAK, R.; STRATTON, M.; PATEL, P. I. A novel Gln358Glu mutation in ectodysplasin A associated with X-linked dominant incisor hypodontia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 143A, p. 390-394, 2007.

THURNAM, J. Two cases in which the skin, hair and teeth were very imperfectly developed. **Proc. R. M. Chirurg. Soc.**, v. 31, p. 71-82, 1848.

TUCKER, A.S.; HEADON, D.J.; SCHNEIDER, P.; FERGUSON, B.M.; OVERBEEK, P.; TSCHOPP, J.; SHARPE, P.T. Edar/Eda interactions regulate enamel knot formation in tooth morphogenesis. **Development (Cambridge)**, v. 127, p. 4691-4700, 2000.

TUFFLI, G. A.; LAXOVA, R. New, autosomal dominant form of ectodermal dysplasia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 14, p. 381-384, 1983.

TURLEAU, C.; NIAUDET, P.; CANABIS, M.O.; PLESSIS, G.; CAU, D.; GROUCHY, J. X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia and t(X;12) in a female. **Clin. Genet.**, v. 35, p. 462-466, 1989.

VALCUENDE-CAVERO, F.; MARTINEZ, F.; PÉREZ-PASTOR, G.; OLTRA, S.; FERRER, I.; TOMÁS-CABEDO, G.; MORENO-PRESMANES, M. Autosomal-dominant

hypohidrotic ectodermal dysplasia caused by a novel mutation. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v. 22, p. 1508-1510, 2008.

VAN DER HOUT, A. H.; OUDESLUIJS, G. G.; VENEMA, A.; VERHEIJ, J. B. G. M.; MOL, B. G. J.; RUMP, P.; BRUNNER, H. G.; VOS, Y. J.; VAN ESSEN, A. J. Mutation screening of the ectodysplasin-A receptor gene *EDAR* in hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Europ. J. Hum. Genet.**, v. 16, p. 673-679, 2008.

VAN STEENSEL, M. A. M.; KOEDAM, M. I.; SWINKELS, O. Q.; RIETVELD, F.; STEIJLEN, P. M. Woolly hair, premature loss of teeth, nail dystrophy, acral hyperkeratosis and facial abnormalities: possible new syndrome in a Dutch kindred. **Br. J. Dermatol.**, v. 145, p. 157-161, 2001.

VILJOEN, D. L.; WINSHIP, W. S. A new form of hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Am. J. Med. Genet.**, v. 31, p. 25-32, 1988.

VINCENT, M.C.; BIANCALANA, V.; GINISTY, D.; MANDEL, J.L.; CALVAS, P. Mutational spectrum of the ED1 gene in X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Eur. J. Hum. Genet.**, v. 9, n. 5, p. 355-363, 2001.

VISINONI, A.F. **Displasia ectodérmica hipoidrótica ligada ao cromossomo X** – estudo molecular do gene *EDI* em quatro famílias brasileiras. Curitiba, 2002. 91 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

VISINONI, A.F.; DE SOUZA, R.L.R.; FREIRE-MAIA, N.; GOLLOP, T.R.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia mutations in Brazilian families. **Am. J. Med. Genet**, v. 122A, p. 51-55, 2003.

YAN, M.; WANG, L.C.; HYMOWITZ, S.G.; SCHILBACH, S.; LEE, J.; GODDARD, A.; VOS, A.M.; GAO, W.Q.; DIXIT, V.M. Two-amino acid molecular switch in an epithelial morphogen that regulates binding to two distinct receptors. **Science (Washington DC)**, v. 290, p. 523-527, 2000.

YOTSUMOTO, S.; FUKUMARU, S.; MATSUSHITA, S.; OKU, T.; KOBAYASHI, K.; SAHEKI, T.; KANZAKI, T. A novel point mutation of the EDA gene in a Japanese family with anhidrotic ectodermal dysplasia. **J. Invest. Dermatol.**, v. 111, p. 1246-1247, 1998.

WALBAUM, R.; DEHAENE, P. H.; SCHLEMMER, H. Dysplasie ectodermique: une forme autosomique récessive? **Arch. Fr. Pédiatr.**, v. 28, p. 435-442, 1971.

WALLACE, H. J. Ectodermal defect with skeletal abnormalities. **Proc. R. Soc. Med. Edinb.**, v. 51, p. 707-708, 1958.

WANG, M. S.; SCHINZEL, A.; KOTZOT, D.; BALMER, D.; CASEY, R.; CHODIRKER, B. N.; GYFTODIMOU, J.; PETERSEN, M. B.; LOPEZ-RANGEL, E.; ROBINSON, W. P. Molecular and clinical correlation study of Williams-Beuren syndrome: no evidence of molecular factors in the deletion region or imprinting affecting clinical outcome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 86, p. 34-43, 1999.

WARD, K. A.; MOSS, C. Evidence for genetic homogeneity of Setleis' syndrome and focal facial dermal dysplasia. **Br. J. Derm.**, v. 130, p. 645-649, 1994.

WEECH, A. A. Hereditary ectodermal dysplasia (congenital ectodermal defect). A report of two cases. **Am. J. Dis. Child.**, v. 37, p. 766-790, 1929.

WERNINGHAUS, K. Ectodermal dysplasia in Cape Verdian families. **Arch. Dermatol.**, v. 129, p. 515-516, 1993.

WESSER, D. W.; WISTNES, L. M. Congenital ectodermal dysplasia, anhidrotic, with palatal paralysis and associated chromosome abnormality. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 14, p. 396-398, 1969.

WIEDEMANN, H. R.; GROSSE, F.R.; DIBBERN, H. **Características das síndromes em pediatria**: Atlas de diagnóstico diferencial. São Paulo: Manole, 1980. 195 p.

WINTER, R. M. Eronen syndrome identical with DOOR syndrome? **Clin. Genet.**, v. 43, p. 167, 1993.

ZANIER, J. H. M.; ROUBICEK, M. M. Hypohidrotic ectodermal dysplasia with autosomal dominant transmission. **Proc. Fifth. Int. Cong. Hum. Genet.**, p. 108, 1976.

ZANKL, A.; SCHEFFER, H.; SCHINZEL, A. Ectodermal dysplasia with tetramelic deficiencies and no mutation in *p63*: odontotrichomelic syndrome or a new entity? **Am. J. Med. Genet.**, v. 127A, p. 74-80, 2004.

ZHANG, H.; QUAN, C.; SUN, L. D.; LV, H. L.; GAO, M.; ZHOU, F. S.; XIAO, F. L.; FANG, Q. Y.; SHEN, Y. J.; ZHOU, L.; YANG, S.; ZHANG, X. J. A novel frameshift mutation of the *EDA1* gene in a Chinese Han family with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Clin. Exp. Dermatol.**, v. 34, p. 74-76, 2009. Disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/121377609/abstract>. Acesso em: 11/12/2008.

ZHANG, X. J.; CHEN, J. J.; SONG, Y. X.; YANG, S.; XIONG, X.Y.; ZHANG, A. P.; HE, P. P.; GAO, M.; LI, Y. B.; LIN, D.; HUANG, W. Mutation analysis of the *ED1* gene in two Chinese Han families with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Arch. Dermatol. Res.**, v. 295, p. 38-42, 2003.

ZHAO, J.; HUA, R.; ZHAO, X.; MENG, Y.; AO, Y.; LINU, Q.; SHANG, D.; SUN, M.; LO, W. H. Y.; ZHANG, X. Three novel mutations of the *EDA* gene in Chinese patients with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. **Br. J. Dermatol.**, v. 158, p. 614-617, 2008.

ZONANA, J.; CLARKE, A.; SARFARAZI, M.; THOMAS, N.S.T.; ROBERTS, K.; MARYMEE, K.; HARPER, P.S. X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia: localization within the region Xq11-21.1 by linkage analysis and implications for carrier detection and prenatal diagnosis. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 43, p. 75-85, 1988a.

ZONANA, J.; GAULT, J.; DAVIES, K.J.P.; JONES, M.; BROWNE, D.; LITT, M.; BROCKDORFF, N.; RASTAN, S.; CLARKE, A.; THOMAS, N.S.T. Detection of a molecular deletion at the DXS732 locus in a patient with X-linked hypohidrotic ectodermal

dysplasia (EDA), with the identification of a unique junctional fragment. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 52, p. 78-84, 1993.

ZONANA, J.; JONES, M.; BROWNE, D.; LITT, M.; KRAMER, P.; BECKER, H.W.; BROCKDORFF, N. RASTAN, S.; DAVIES, K.P.; CLARKE, A.; THOMAS, N.S.T. High-resolution mapping of the X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia (EDA) locus. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 51, p. 1036-1046, 1992.

ZONANA, J.; ROBERTS, S.H.; THOMAS, N.S.T.; HARPER, P.S. Recognition and reanalysis of a cell line from a manifesting female with X linked hypohidrotic ectodermal dysplasia and an X; autosome balanced translocation. **J. Med. Genet.**, v. 25, p. 383-386, 1988b.

## APÊNDICE 1      MODELO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

No Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná está sendo realizado um projeto de pesquisa denominado **Estudos Moleculares das Displasias Ectodérmicas**. Este trabalho visa identificar, ao nível genético (DNA), as alterações que possam ser responsáveis pelo desenvolvimento das displasias ectodérmicas.

A participação de pacientes e seus parentes consangüíneos nesse estudo é voluntária e espontânea. Essa participação consiste em responder a um curto questionário, submeter-se a um exame clínico e à coleta de uma amostra de sangue para ser usada em exames laboratoriais.

Os exames e a coleta de sangue são indolores e sem desconfortos e não há riscos de contaminação ou qualquer outro efeito indesejável. A privacidade dos dados pessoais, das informações fornecidas e dos resultados dos exames está assegurada.

Os voluntários receberão informações personalizadas sobre o surgimento e desenvolvimento da displasia ectodérmica em sua família, obtendo inclusive os resultados dos exames.

Desta forma Eu, \_\_\_\_\_, fui totalmente esclarecido sobre este trabalho. Concordo em participar deste estudo como voluntário, submetendo-me ao exame clínico bem como autorizo a coleta de uma amostra de meu sangue para que se façam os exames laboratoriais.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.  
(local)                      (dia)                      (mês)                      (ano)

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Averiguador

## APÊNDICE 2      MODELO DAS INSTRUÇÕES PARA COLETA E ENVIO DE AMOSTRAS DE SANGUE

### Instruções para coleta e envio de amostras de sangue

Estamos enviando o material necessário para coleta de sangue de sua família. Ficaremos felizes em poder dar um diagnóstico mais preciso sobre a origem da displasia. Para tanto, o sangue deve ser coletado da seguinte maneira:

1. Cada indivíduo que doar o sangue deve ler o termo de “Consentimento Livre e Esclarecido”, que acompanha o material de coleta. Se concordar com o conteúdo, assinar esse termo; Se o doador for menor de idade, um dos pais ou responsável deve assinar;
2. O sangue precisa ser coletado nos Vacutainer<sup>TM</sup> Tainer que estamos enviando;
3. Identificar cada tubo escrevendo o nome completo da pessoa e aplicar durex sobre o escrito para impedir que borre. Usar dois tubos para cada indivíduo;
4. Pedir à pessoa que for executar a coleta que preencha cada tubo com o volume adequado de sangue (os tubos já vem com vácuo, permitindo que o sangue seja aspirado automaticamente para o tubo). Quando parar de entrar sangue no tubo (é normal que o tubo não fique cheio), remover o tubo do aparato de coleta, sem tirar a agulha da veia, e inserir o segundo tubo (em nenhum momento os tubos devem ser abertos);
5. Inverter os tubos diversas vezes, com suave agitação para permitir que o anticoagulante (já presente nos tubos) se misture bem com o sangue;
6. Repetir o procedimento com todos os doadores;
7. Reunir todos os tubos e os envolver com filme de PVC (plástico usado para cobrir alimentos) ou saco plástico;
8. Caso o sangue não seja enviado logo após a coleta, é importante que ele permaneça refrigerado, mas não congelado (colocar apenas na geladeira);
9. No momento de enviar as amostras, colocar a almofada térmica (previamente resfriada no congelador ou freezer) no fundo do isopor e acomodar os tubos;
10. Remeter via correio com a maior brevidade possível.
11. Em caso de sobra de material (agulhas e tubos não utilizados), favor os enviar junto com o sangue.

Para a remessa alguns detalhes têm que ser observados:

1. Os melhores dias para enviar o material são segunda-feira e terça-feira, evitando as semanas que tenham feriado;
2. Quanto menor for o tempo entre a coleta e o envio, melhor;
3. O material deve ser enviado por SEDEX para:  
Profª. Eleidi Freire-Maia  
Rua Pasteur, 443, apartamento 401  
CEP 80.250-080  
Curitiba – Paraná

Caso surja alguma dúvida, favor entrar em contato conosco antes de realizar a coleta:  
[eleidi@ufpr.br](mailto:eleidi@ufpr.br); fones: 41- 3361-1553; 41-3244-6344  
[ativis@ufpr.com.br](mailto:ativis@ufpr.com.br); fone: 41- 3652-1480; 41- 9976-2927.

### **APÊNDICE 3 ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE *ED1* EM DEZ FAMÍLIAS BRASILEIRAS: DETALHAMENTO DA METODOLOGIA LABORATORIAL**

Com o objetivo de se analisar o DNA de indivíduos afetados por XLHED (Capítulo 5) foram usadas a amplificação do DNA por PCR, a purificação do produto amplificado e o sequenciamento desse produto, seguido da sua análise. Tais técnicas serão descritas a seguir.

#### **EXTRAÇÃO DO DNA**

A extração de DNA das amostras de sangue das famílias A e B foi realizada anteriormente (VISINONI, 2002), pelo método de *salting out*, com alterações do protocolo de LAHIRI e NURNBERGER (1991). Para a extração do DNA das amostras de sangue, referentes às demais famílias, usou-se o protocolo, conforme descrito a seguir.

1. Obtém-se o creme de leucócitos, através de centrifugação de cada amostra de sangue a 2500 rpm durante 20 minutos, e se o transfere para um tubo de centrífuga graduado de 15 ml, onde se completa o volume com solução de TKM 1 até o volume final de 10 ml.
2. Adicionam-se, então, 125 µl de Igepal (Sigma) para lisar as células e se mistura por inversão várias vezes.
3. Após a centrifugação padrão (2500 rpm por 20 minutos à temperatura ambiente) as soluções sobrenadantes são descartadas e a cada precipitado é acrescentada solução de TKM 1 até completar o volume de 10 ml. Executa-se nova centrifugação a 2500 rpm por 20 minutos e se despreza o sobrenadante.
4. Ressuspende-se o precipitado em 800 µl de tampão TKM2 e se o transfere para um tubo de microcentrífuga (1,5 ml) com uma micropipeta.

5. Adicionam-se 50 µl de SDS a 10% e mistura-se a suspensão com uma pipeta. Incuba-se por 2 horas em banho-maria a 55°C.
6. Adicionam-se, então, 300 µl de NaCl 6M e se mistura bem.
7. Centrifuga-se a 12 000 rpm por 20 minutos, em uma microcentrífuga.
8. Retira-se o sobrenadante, que contém o DNA, passando-o para um tubo de ensaio e se descarta o precipitado de proteínas.
9. Adicionam-se ao sobrenadante dois volumes de etanol 100%, gelado, e se inverte o tubo várias vezes até que ocorra a precipitação do DNA.
10. Remove-se o DNA precipitado para um tubo de microcentrífuga, lavando-o com etanol 70%, gelado. O etanol é então dispensado e se coloca o tubo aberto na estufa a 37°C até a evaporação total do etanol.
11. Ressuspende-se o DNA em 200 µl de tampão TE.

Leva-se, então, ao banho-maria a 55° C, por uma hora, para que ocorra a solubilização do DNA. Depois desta etapa, deixam-se os tubos na geladeira por mais três dias antes de se congelar essas amostras a -20° C.

### **AMPLIFICAÇÃO DO DNA: PROCEDIMENTO PADRÃO**

A amplificação do DNA está sendo executada por PCR (sigla inglesa para Reação em Cadeia da Polimerase). Tais PCRs são realizadas com 19 µl de volume total de reação, contendo 18 µl de PCR supermix (Gibco BRL – 122 mM Tris-HCl de pH 8,4, 55 mM KCl, 1,65 mM MgCl<sub>2</sub>, 220 µM dGTP, 220 µM dATP, 220 µM dTTP, 220 µM dCTP, 22 U/ml de *Taq* DNA polimerase recombinante e estabilizadores), 1 µl de DNA (cerca de 150 ng), 10 pmoles de cada iniciador. As PCRs serão feitas em um termociclador Techgene Ftagene2D, usando uma temperatura inicial de 94°C por 1 minuto, a desnaturação a 94°C por 1 minuto, a hibridização, por 1 minuto, em temperatura variável de acordo com cada iniciador, a extensão a 72°C por 1 minuto e a



extensão final a 72°C por 10 minutos. Alguns dos iniciadores foram especialmente desenhados para o desenvolvimento deste projeto, enquanto que outros foram desenvolvidos para estudo anterior (VISINONI et al., 2003). A tabela A.1 mostra os iniciadores usados para cada exon, bem como o tamanho do fragmento amplificado.

**TABELA A.1 – INICIADORES USADOS PARA A AMPLIFICAÇÃO DO GENE *EDI* POR PCR**

<b>EXON</b>	<b>INICIADOR DIRETO (5' → 3')</b>	<b>INICIADOR REVERSO (5' → 3')</b>	<b>TAMANHO DO FRAGMENTO (pb)</b>
<b>1</b>	GGGTCGGCCGGGACCTCCTC <sup>a</sup>	GCCGCCGCCCTACTAGG <sup>a</sup>	688
<b>3</b>	CAGTGGAGGGGAAGATGGGC	CCACCATGCCCTACCAAGAAGGT <sup>a</sup>	338
<b>4</b>	CCTCAGGAGTCAGAAGAC	ATAACAGACAGACAATGCTG <sup>a</sup>	325
<b>5</b>	ACTACAAATGTAACTGAGGCC	CACCCACTCCTGCTCTCCTAAAG	582
<b>6</b>	GAAGGTCAGGGCAGGAAACAG	AAAGGTGGCTCTAGCCTGTGG <sup>a</sup>	278
<b>7</b>	CAAGACAGGGGAGAGGGAT	GATTATTTGGAGGCTGGGGAG <sup>a</sup>	254
<b>8</b>	GCCTGGCAGCTGCTTTACAAAC	GCACCGGATCTGCATTCTGG <sup>a</sup>	371
<b>9</b>	AGAACAATGCCTGTCACCTGTCC	TCATGTAAACCCTGGGGCTCC	661

NOTA: <sup>a</sup> Iniciadores anteriormente utilizados por Visinoni et al. (2003).

## **PURIFICAÇÃO DO DNA**

Existe a necessidade de se purificar o produto de PCR a fim de se eliminar DNA contaminante, tais como excesso de iniciadores e segmentos parcialmente amplificados, que poderiam comprometer o resultado do sequenciamento. Para isso, se utilizou uma técnica de purificação com solução de Acetato de Amônio, de acordo com a seguinte metodologia.

1. Acrescentar acetato de amônio 7,5M (28,9g de acetato de amônio em água ultra pura em um volume final de 25 ml), correspondendo a 2/3 do volume do produto de PCR.
2. Adicionar etanol absoluto, correspondendo a duas vezes o volume do produto de PCR, e manter em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente.
3. Centrifugar a 14 000 rpm durante 15 minutos.
4. Descartar o sobrenadante e adicionar 250 µl de etanol 70% (700 µl de etanol e 300 µl de água ultra pura).
5. Centrifugar a 14 000 rpm durante 15 minutos.
6. Descartar o sobrenadante e secar as amostras em estufa a 37° C.
7. Ressuspender as amostras em 15 µl de tampão TE.
8. O produto purificado de PCR foi então quantificado comparando-o com o padrão de massa molecular (*Low DNA Mass Ladder - Invitrogen*). Essa comparação é executada aplicando-se 2µl de corante xileno cianol e 2µl das amostras em gel de agarose 3%, corrida eletroforética de 30 minutos seguida de coloração em brometo de etídeo durante 15 minutos. Verifica-se, então, a concentração do DNA purificado comparando-se o padrão de bandas entre esses produtos e o padrão de massa molecular.

### **Purificação do DNA pelo Método EXO-SAP**

O método de purificação descrito acima não foi eficaz para a análise de todos os segmentos de DNA. Por este motivo, o produto de PCR de alguns exons foi submetido a uma outra metodologia de purificação que consiste no uso de duas enzimas, exonuclease I (EXO) e fosfatase alcalina de camarão (SAP, ambas da *GE Healthcare*), conforme protocolo descrito a seguir.

1. Acrescentar 1 µl de cada enzima para cada 10 µl de produto de PCR;
2. Incubar a 37° C durante uma hora;

3. Incubar a 80° C durante quinze minutos para desnaturar as enzimas.

## **PREPARO DAS AMOSTRAS DE DNA PARA SEQUENCIAMENTO**

A estratégia de análise do gene consistiu em examinar, através de sequenciamento, cada um dos exons separadamente. Juntamente com a análise desses exons, foram também analisados cerca de cem nucleotídeos de cada uma das porções intrônicas adjacentes, a jusante e a montante desses exons, a fim de se verificar alterações que pudessem resultar em criação de novos sítios de processamento alternativo, que poderiam levar ao truncamento da proteína.

Foram submetidas a sequenciamento as amostras referentes a indivíduos afetados de todas as famílias. Como as famílias A e B são muito grandes, apenas alguns indivíduos foram analisados.

Para o sequenciamento usou-se o kit *Big Dye Terminator v 3.1 (Applied Biosystems)*, empregando-se o sequenciador automático ABI 377, do Departamento de Bioquímica da UFPR. O preparo das amostras foi executado de acordo com a metodologia a seguir.

### **Reação de Sequenciamento**

Para a reação de sequenciamento preparou-se, para cada amostra, uma solução contendo 2µl de Big Dye, 1µl de iniciador (5pM/µl) e uma quantidade variável (de 1 a 3,5µl) de DNA purificado a fim de se obter aproximadamente 40ng. Completa-se, então, o volume de 10µl com água ultra pura.

Em seguida, essas amostras foram submetidas à reação de sequenciamento em termociclador *Techgene Ftagene2D* com o uso de programa padrão do laboratório de Polimorfismo e Ligação (35 ciclos de 90°C por 30 segundos, 48°C por 45 segundos e 60°C por 5 minutos e 45 segundos).

### **Purificação do Produto da Reação de Sequenciamento**

O material obtido da reação acima foi purificado de acordo com a seguinte metodologia.

1. Acrescentar, ao produto da reação de sequenciamento, 10µl de água ultra pura, 2µl de acetato de amônia 7,5M e 65µl de etanol absoluto.
2. Misturar e deixar em repouso durante 10 minutos em temperatura ambiente.
3. Centrifugar a 14 000 rpm durante 15 minutos.
4. Descartar o sobrenadante e adicionar 100 µl de etanol 70% (700 µl de etanol e 300 µl de água ultra pura).
5. Centrifugar a 14 000 rpm durante 15 minutos.
6. Descartar o sobrenadante e secar bem as amostras em estufa a 37° C.

Essas amostras foram finalmente encaminhadas ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná para sequenciamento automático.

### **ANÁLISE DO DNA**

Os eletroferogramas, obtidos pelo sequenciamento, tiveram sua qualidade avaliada através do programa BioEdit (HALL, 1999) e as respectivas sequências foram

comparadas com a sequência consenso através do programa Mega 3.1 (KUMAR; TAMURA; NEI, 2004).

Para se comprovar o efeito das mutações no surgimento do fenótipo displásico, a alteração de aminoácidos foi comparada com a sequência de aminoácidos da ectodisplasina em oito diferentes espécies, *M. musculus*, *R. norvegicus*, *M. domestica*, *M. taurus*, *C. lupus*, *G. gallus*, *D. rerio* e *G. aculeatus*. A atribuição da responsabilidade de uma mutação pela XLHED dependeu do fato de que o consequente aminoácido alterado estivesse conservado nestas espécies.